



UNIVERSIDAD DE CORDOBA

PROGRAMA DE DOCTORADO: BIOMEDICINA

TESIS DOCTORAL:

**VÍA BILIAR EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO: ESTUDIO GLOBAL  
MEDIANTE MEDICIÓN DE MICROTENSIÓN TISULAR DE O<sub>2</sub>,  
MICROFLUJOMETRÍA E HISTOLOGÍA DE LOS FACTORES  
INVOLUCRADOS EN LA VIABILIDAD DE LA MISMA**

---

**BILE DUCT IN LIVER TRANSPLANTATION: GLOBAL ANALYSIS OF  
FACTORS INVOLVED ON ITS VIABILITY BY TISSUE OXYGEN  
MICROTENSION MEASUREMENT AND PATHOLOGY CORRELATIONS**

DIRECTORES:

- PROF. DR. D. FRANCISCO JAVIER BRICEÑO DELGADO
- DR. D. RUBÉN CIRIA BRU

AUTORA:

- ELENA NAVARRO RODRÍGUEZ

FECHA DE DEPÓSITO: 23/12/2019

TITULO: *VÍA BILIAR EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO: ESTUDIO GLOBAL  
MEDIANTE MEDICIÓN DE MICROTENSION TISULAR DE O<sub>2</sub>,  
MICROFLUJOMETRÍA E HISTOLOGÍA DE LOS FACTORES  
INVOLUCRADOS EN LA VIABILIDAD DE LA MISMA*

AUTOR: *Elena Navarro Rodríguez*

---

© Edita: UCOPress. 2020  
Campus de Rabanales  
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A  
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>  
[ucopress@uco.es](mailto:ucopress@uco.es)

---





**TÍTULO DE LA TESIS: VÍA BILIAR EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO: ESTUDIO GLOBAL MEDIANTE MEDICIÓN DE MICROTENSIÓN TISULAR DE O<sub>2</sub>, MICROFLUJOMETRÍA E HISTOLOGÍA DE LOS FACTORES INVOLUCRADOS EN LA VIABILIDAD DE LA MISMA**

**DOCTORANDO/A: ELENA NAVARRO RODRIGUEZ**

**INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS**

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La doctoranda Elena Navarro asumió la realización de esta tesis con la intención de demostrar el concepto de oxigenación en la vía biliar dentro del trasplante hepático intentando analizar las causas que determinan las complicaciones biliares post-trasplante hepático mediante la realización de determinaciones *in vivo* oximétricas del tejido peribiliar. Del mismo modo, añadimos a este proyecto mediciones anatomo-patológicas y conseguimos correlacionar nuestros hallazgos en 23 casos obteniendo resultados muy interesantes que fueron finalmente publicados en la prestigiosa revista *Clinical Transplantation* (Preliminary results from the use of intraoperative real-time biliary oxygen monitoring in liver transplantation. Ciria R, Navarro E, Sánchez-Frías M, Gallardo AB, Medina J, Ayllón MD, Gomez-Luque I, Ruiz-Rabelo J, Luque A, de la Mata M, Rufián S, López-Cillero P, Briceño J. Clin Transplant. 2018 Dec;32(12):e13433. doi: 10.1111/ctr.13433).

Este Proyecto de investigación tuvo el soporte y evaluación positiva final de la Fundación Progreso y Salud (PI-0543/2012) y obtuvo premios de prestigio nacional e internacional, entre los que destacan:

- PREMIADA COMO MEJOR COMUNICACIÓN ORAL (YOUNG INVESTIGATOR AWARD) Real-time measurements of tissue oxygen microtension as a marker of bile duct viability in liver transplantation. Ruben Ciria, Elena Navarro, Ana Belen Gallardo, Javier Medina, Marina Sánchez-Frías, María Dolores Ayllón, Sebastian Rufian, Pedro Lopez-Cillero, Javier Briceño. International Liver Transplantation Society (8-11 de Julio de 2015, Chicago, EEUU).
- PREMIO MEJOR COMUNICACIÓN ORAL: Determinaciones “*in vivo*” de microtensión tisular de oxígeno como marcador de viabilidad de la vía biliar en el trasplante hepático. Navarro Rodríguez E, Ciria Bru R, Medina Fernández FJ,

Sánchez Frías M, Gallardo Herrera AB, Rufián Peña S, López Cillero P, Briceño Delgado J. IX Congreso de la SATOT (7-9 de Junio de 2015, Córdoba, España).

Los resultados de este trabajo han sido muy difíciles de conseguir. La doctoranda estuvo localizada 24 horas al día durante los 7 días de la semana hasta la obtención de un número suficiente de muestras. Hubo de acudir a los trasplantes y realizar las determinaciones.

Ha sido un gran trabajo que inicia una más que segura brillante carrera investigadora y que esperamos pueda culminar con la lectura del presente proyecto de tesis doctoral.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral titulada **VÍA BILIAR EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO: ESTUDIO GLOBAL MEDIANTE MEDICIÓN DE MICROTENSIÓN TISULAR DE O<sub>2</sub>, MICROFLUJOMETRÍA E HISTOLOGÍA DE LOS FACTORES INVOLUCRADOS EN LA VIABILIDAD DE LA MISMA**

**BILE DUCT IN LIVER TRANSPLANTATION: GLOBAL ANALYSIS OF FACTORS INVOLVED ON ITS VIABILITY BY TISSUE OXYGEN MICROTENSION MEASUREMENT AND PATHOLOGY CORRELATIONS .**

Córdoba, 15 de Diciembre de 2019

Firma del/de los director/es



Fdo.: PROF. JAVIER BRICEÑO DELGADO



Fdo.: DR. RUBEN CIRIA



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Doctorando:

Dña. Elena Navarro Rodríguez, facultativo especialista del servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba.

Directores:

Prof. Dr. D. Francisco Javier Briceño Delgado, Jefe de servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba y Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Córdoba.

Y

D. Rubén García Bru, médico especialista del servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba y Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Córdoba.

Certifican:

Que la Tesis Doctoral titulada “Vía biliar en el trasplante hepático: estudio global mediante medición de microtensión tisular de O<sub>2</sub>, microflujometría e histología de los factores involucrados en la viabilidad de la misma” ha sido realizada por Dña. Elena Navarro Rodríguez bajo nuestra tutela y dirección.

Dr. D. Francisco Javier Briceño Delgado

Dr. D. Rubén Ciria Bru

Córdoba, a 5 de Diciembre de 2019

## I. AGRADECIMIENTOS



## II. AYUDAS RECIBIDAS Y CONFLICTO DE INTERESES

Los autores del estudio presentado no presentan ningún conflicto de intereses en relación con los materiales y métodos utilizados en estos trabajos y los resultados mostrados.

Este trabajo ha estado financiado en parte por el Fondo de Investigación Sanitaria “Fundación Progreso y Salud. Junta de Andalucía. PI-0543/2012” otorgada al Dr. Ciria Bru.

### III. ÍNDICE DE ABREVIATURAS

#### **A**

- A: arteria marginal procedente de la gastroduodenal
- AH: Arteria hepática
- ALT (GPT): Alanina aminotransferasa
- AST (GOT): Aspartato aminotransferasa
- ASP: Arteria pancreatoduodenal superoanterior.
- ATP: Adenosin-tri-fosfato

#### **B**

- BMI (IMC): Body Mass Index

#### **C**

- C: Arteria cística
- cDNA: DNA complementario
- CHC: Carcinoma hepatocelular
- CMV: Citomegalovirus
- CRMN: Colangio- Resonancia magnética nuclear

#### **D**

- D: Desviación Típica

#### **E**

- EASL (“European Association for the Study of the Liver”): Asociación europea para el estudio del hígado
- ECD (DCE): extended criteria donors
- ENA: Estenosis no anastomóticas

## **G**

- GD: Arteria Gastroduodenal
- GGT: Gamma glutamil transferasa

## **H**

- h: hora
- HTK: Histidina-triptófano-ketoglutarato
- HTA: Hipertensión arterial

## **I**

- IL: Interleukina
- IMC: Índice de masa corporal
- INR: International Normalized Ratio
- I-R: Isquemia- Reperusión

## **L**

- LDLT: Living donor liver tansplantation
- LH: Arteria hepática izquierda
- LHD: Lóbulo hepático derecho
- LHI: Lóbulo hepático izquierdo

## **M**

- M: Media
- MELD: Model for end-stage liver disease
- MicropO<sub>2</sub>: micro Presión parcial de oxígeno.
- min: minuto
- mm Hg: milímetros de Mercurio

## **O**

- O<sub>2</sub>: Oxígeno

- OR: odds ratio

## **P**

- PMN
- pO<sub>2</sub>: Presión parcial de oxígeno

## **Q**

- QETA: Quimioembolización transarterial

## **R**

- R: Rango
- RH: Arteria hepática derecha
- RMN: Resonancia magnética nuclear
- ROS: Especies reactivas de oxígeno

## **S**

- SC: arteria cística superficial

## **T**

- TH: Trasplante hepático
- TNFa: Tumor necrosis factor alfa
- TRAIL apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral

## **U**

- UCI: Unidad de cuidados intensivos

## **V**

- VBD: Vía biliar donante
- VBR: Vía biliar receptor
- VEGF: Vascular endothelial growth factor
- VHC: Virus Hepatitis C
- VHB: Virus Hepatitis B





#### IV. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

##### FIGURAS:

**Fig.1.** Variaciones anatómicas de la confluencia biliar. Imagen tomada de Netter. *Página 27.*

**Fig. 2.** Variaciones anatómicas del conducto cístico. A. Unión baja entre el conducto. *Página 28.*

**Fig. 3.** Variaciones de la irrigación del conducto hepático común y conducto colédoco. GD: Arteria gastroduodenal; RH: arteria hepática derecha; LH: arteria hepática izquierda; H: arteria hepática; SC: arteria cística superficial; C: arteria cística; A: arteria marginal procedente de la gastroduodenal; ASP: arteria pancreatoduodenal superoanterior.<sup>10</sup> Tomada de Karalioitas et al, Liver and biliary tract surgery. Embiological anatomy to 3D Imaging and transplant innovations. Grecia: Springer Verlag;2006. *Página 30.*

**Fig. 4.** A, emplazamiento de tubo en “T” externo. B, emplazamiento de tubo en “Y” interno. *Página 33.*

**Fig. 5.** Esquema de la forma de vascularización más frecuente de la vía biliar común. *Página 36.*

**Fig. 6.** Aporte vascular de la vía biliar tras el trasplante hepático, clasificación de las complicaciones biliares y etiología de las estenosis no anastomóticas.<sup>46</sup> *Página 37.*

**Fig.7.** Sonda de punta fina Oxylite de medición de presión parcial de oxígeno (mmHg) con reajuste automático de temperatura. *Página 56.*

**Fig. 8.** Gráfica de monitorización de tensión parcial de oxígeno con ajuste automático de temperatura. *Página 56.*

**Fig. 9.** Dispositivo OxyLite Pro. *Página 57.*

**Fig. 10.** Consolas Powerlab 4/26 para procesamiento de resultados a través de un software de OxyLite compatible. *Página 58.*

**Fig. 11.** Gráfica de monitorización de tensión parcial de oxígeno con ajuste automático de temperatura en flap muscular. *Página 58.*

**Fig. 12.** Localización de las cuatro mediciones realizadas en cada acto quirúrgico: bordes anastomóticos de vía biliar y a un centímetro distal a estas mediciones en donante y receptor. *Página 59.*

**Fig. 13.** Imagen intraoperatoria de medición de tensión parcial de oxígeno en bordes anastomóticos de vía biliar en donante y receptor con sensor de oximetría de punta fina. *Página 60.*

**Fig. 14.** Imagen intraoperatoria de medición de tensión parcial de oxígeno a 1 centímetro de ambos bordes anastomóticos de vía biliar en donante y receptor con sensor de oximetría de punta fina. *Página 60.*

**Fig. 15.** Tinción de hematoxilina eosina en vía biliar en dos casos distintos. *Página 63.*

**Fig. 16.** Tinción tricrómico de Masson en vía biliar en dos casos distintos. *Página 64.*

**Fig. 17.** Tinción de reticulina en vía biliar. *Página 66.*

**Fig. 18.** Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a nivel de la anastomosis en vía biliar del donante. *Página 77.*

**Fig. 19.** Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a 1cm distal de la anastomosis en vía biliar del donante. *Página 77.*

**Fig. 20.** Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a nivel de la anastomosis en vía biliar del receptor. *Página 77.*

**Fig. 21.** Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a 1cm distal de la anastomosis en vía biliar del receptor. *Página 77.*

**Fig. 22.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en epitelio biliar. *Página 93.*

**Fig. 23.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en estroma mural. *Página 93.*

**Fig. 24.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en el plexo vascular peribiliar. *Página 93.*

**Fig. 25.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de sangrado intraluminal. *Página 93.*

**Fig. 26.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en glándulas periluminales. *Página 94.*

**Fig. 27.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en glándulas profundas. *Página 94.*

**Fig. 28.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de inflamación de la vía biliar. *Página 94.*

**Fig. 29.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión post-revascularización. *Página 94.*

**Fig. 30.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de arteriosclerosis de la arteria hepática. *Página 95.*

**Fig. 31.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de esteatosis hepática del injerto. *Página 95.*

**Fig. 32.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión del epitelio de la vía biliar. *Página 97.*

**Fig. 33.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión del estroma mural. *Página 97.*

**Fig. 34.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión del plexo vascular peribiliar. *Página 97.*

**Fig. 35.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de sangrado intraluminal de la vía biliar. *Página 97.*

**Fig.36.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión de las glándulas periluminales de la vía biliar. *Página 98.*

**Fig. 37.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión de las glándulas profundas de la vía biliar. *Página 98.*

**Fig. 38.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de inflamación de la vía biliar. *Página 98.*

**Fig. 39.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de arteriosclerosis de la arteria hepática del receptor. *Página 98.*

**Fig. 40.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN 15 días postoperatorios. *Página 100.*

**Fig. 41.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN 90 días postoperatorios. *Página 100.*

**Fig. 42.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a los 30 días postoperatorios.

**Página 101.**

**Fig. 43.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a los 90 días postoperatorios.

**Página 101.**

**Fig. 44.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados estenosis de la vía biliar y uso de prótesis biliar. **Página 101.**

**Fig. 45.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con mortalidad a 90 días. **Página 101.**

**Fig. 46.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN a 15 días. **Página 104.**

**Fig. 47.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN a 90 días. **Página 104.**

**Fig. 48.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a 30 días postoperatorios.

**Página 105.**

**Fig. 49.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a 90 días postoperatorios.

**Página 105.**

**Fig. 50.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con estenosis en la vía biliar con uso de prótesis biliar. **Página 105.**

**Fig. 51.** Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con mortalidad a 90 días postoperatorios. **Página 105.**

#### TABLAS:

**Tabla. 1.** Factores pronósticos analizados en donante, receptor, fase quirúrgica y postoperatorio. **Página 53.**

**Tabla.2.** Escala de lesión histológica de la vía biliar. Escala modificada de Hansen et al. Journal Hepatology 2014 Jun;60(6):1172-9. **Página 67.**

**Tabla. 3.** Clasificación de la lesión de isquemia reperusión. **Página 69.**

**Tabla. 4.** Características descriptivas basales de nuestra población a estudio (N=23) en donante y receptor. M: Media; D: Desviación típica; R: Rango. ***Página 72.***

**Tabla. 5.** Valores de microtensión tisular de oxígeno a nivel de las cuatro localizaciones de medición en la vía biliar. ***Página 76.***

**Tabla. 6.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en ambos extremos tanto en donante como en receptor a nivel de la anastomosis biliar y a 1 cm distal en nuestra muestra a estudio (N=23). ***Página 78.***

**Tabla 7.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en ambos extremos tanto en donante como en receptor a nivel de la anastomosis biliar y a 1 cm distal en los pacientes con anastomosis biliar realizada por encima de la inserción del conducto cístico. ***Página 79.***

**Tabla 8.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en ambos extremos tanto en donante como en receptor a nivel de la anastomosis biliar y a 1 cm distal en los pacientes con anastomosis biliar realizada por debajo de la inserción del conducto cístico. ***Página 80.***

**Tabla 9.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en a nivel del borde anastomótico de la vía biliar en la muestra completa de donante en función de la localización de la anastomosis biliar, con o sin sección del conducto cístico. ***Página 81.***

**Tabla 10.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de variables consideradas criterios expandidos. ***Página 82.***

**Tabla 11.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de variables consideradas de riesgo para presencia de microvasculopatía arterial. ***Página 83.***

**Tabla 12.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del receptor en función de variables consideradas de riesgo para presencia de microvasculopatía arterial. ***Página 85.***

**Tabla 13.** Hallazgos histopatológicos en la vía biliar del donante. Score de Hansen.<sup>90</sup> ***Página 87.***

**Tabla 14.** Resultados descriptivos de hallazgos histopatológicos en la vía biliar del donante. Score de Hansen.<sup>90</sup> ***Página 88.***

**Tabla 15.** Resultados descriptivos de hallazgos histopatológicos en la arteria hepática en donante y receptor. ***Página 89.***

**Tabla 16.** Resultados descriptivos de hallazgos histopatológicos de esteatosis hepática en el injerto y de lesión post-revascularización en injerto. ***Página 90.***

**Tabla 17.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de los hallazgos histopatológicos de la biopsia de la vía biliar del donante.

***Página 91.***

**Tabla 18.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del receptor en función de los hallazgos histopatológicos de la biopsia de la vía biliar del receptor.

***Página 96.***

**Tabla 19.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de las complicaciones postoperatorias. ***Página 101.***

**Tabla 20.** Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del receptor en función de las complicaciones postoperatorias. ***Página 103.***





## V. ÍNDICE

- I. Agradecimientos.
  - II. Ayudas recibidas y Conflicto de intereses.
  - III. Índice de abreviaturas.
  - IV. Índice de Tablas y Figuras
  - V. Índice.
  - VI. Resumen / Abstract
- 
- 1. Introducción
    - a. Anatomía de la vía biliar
    - b. Anastomosis biliar en el trasplante hepático (seehofer)
    - c. Complicaciones biliares post-trasplante hepático
      - i. Evolución histórica
      - ii. Mecanismos de la complicación biliar
      - iii. Tipos:
        - 1. Anastomótica
          - Fístula
          - Estenosis
        - 2. No anastomótica
          - Estenosis
          - Colangiopatía isquémica
    - d. Lesión isquemia-reperfusión y vía biliar.
    - e. Fisiopatología de la oxigenación tisular. Estudios de microoxigenación tisular.
  - 2. Hipótesis
  - 3. Objetivos principal y secundarios
  - 4. Pacientes y Métodos
    - a. Diseño del estudio
    - b. Población de estudio
    - c. Criterios de inclusión y exclusión

- d. Consideraciones técnicas
  - e. Factores pronósticos y determinaciones de laboratorio
  - f. Determinaciones radiológicas
  - g. Mediciones oximétricas
  - h. Mediciones histológicas
  - i. Escalas de lesión histológica
  - j. Análisis estadístico
  - k. Informe del comité ético
5. Resultados
- a. Análisis descriptivo general
  - b. Oxigenación de la vía biliar.- Estudio descriptivo
  - c. Oxigenación de la vía biliar.- Estudio comparativo
    - i. Distancia a la anastomosis
    - ii. Donantes con criterios expandidos
    - iii. Receptores de alto riesgo (TACE / BMI / Diabetes)
  - d. Oxigenación de la vía biliar.- Correlación histológica
  - e. Oxigenación de la vía biliar.- Correlación de complicaciones biliares
6. Discusión
- a. De metodología
    - i. De los criterios de inclusión / exclusión
    - ii. De las mediciones oximétricas
    - iii. La problemática de la histología biliar
      - 1. Marcadores histológicos
      - 2. Clasificaciones biliares
  - b. Bibliográfica
    - i. Mecanismos de prevención de la complicación biliar: Del Kehr a la medición oximétrica intraoperatoria
  - c. De resultados
    - i. ¿Existe una microangiopatía biliar?
    - ii. ¿Existe una vía biliar con criterios expandidos?

- iii. Limitaciones del estudio
  - iv. Novedades del estudio
  - v. Perspectivas de futuro.
- 7. Conclusiones
  - 8. Índice de comunicaciones, publicaciones y premios.
  - 9. Referencias



## VI. RESUMEN / ABSTRACT

**Background and aims:** Biliary anastomosis is a frequent area of complications after liver transplantation (LT) and a potential area of “microangiopathy”. The concept of a “marginal bile duct” is unexplored. The main aim was to make a preliminary evaluation of the utility of an innovative real-time oxygen microtension (pO<sub>2</sub>mt) testing device for the assessment of bile duct viability during LT and to correlate these pO<sub>2</sub>mt values with microvascular tissue quality by histopathology and outcomes.

**Patients and methods:** Observational prospective cohort study with 23 patients. Oxygen microtension measurements were made placing a micropO<sub>2</sub> probe in different areas of recipient and donor’s bile duct intraoperative. A correlation with pathological findings including several parameters of biliary quality was performed.

**Results:** Mean pO<sub>2</sub>mt in the graft bile duct at the level of the anastomosis 103.82 (31-157) mm Hg, being 121.52 (55-174) mm Hg 1.5 cm proximal to the hilar plate ( $P < 0.001$ ). Mean pO<sub>2</sub>mt in the recipient’s bile duct was 117.87 (62-185) mm Hg, while a value of 137.30 (81-198) mm Hg was observed 1.5 cm distal to the anastomosis ( $P < 0.001$ ). Cystic duct resection (12 cases) was also related with higher pO<sub>2</sub>mt values at anastomosis [117.8 (93-157) vs 88.54 (31-124) mm Hg] and distal to anastomosis [135.6 (111-174) vs 106.2 (55-133) mm Hg;  $P < 0.001$ ]. In the pathological correlations, impairment in mural strom ( $P=0.001$ ) and disruption in peribiliary vascular plexus ( $P=0.007$ ) in the donor side correlated with lower rates of pO<sub>2</sub> measurements. In the recipient side, disruption of the epithelium ( $P=0.007$ ), most severe inflammation ( $P=0.042$ ) and disruption in peribiliary vascular plexus ( $P=0.025$ ) correlated also with reduced pO<sub>2</sub> measurements. Patients with 1-, 3-, and 12-month biliary complications had significantly lower pO<sub>2</sub>mt in the intraoperative measurements in both donor and recipients’ sides.

**Conclusion:** Our preliminary results show that distal borders of donor and recipient bile ducts may be low-vascularized areas. Tissue pO<sub>2</sub>mt is significantly higher in areas close to the hilar plate and to the duodenum in donor and recipient’s sides, respectively. Bile duct injury and biliary complications are associated with worse tissue pO<sub>2</sub>mt.



## 1. INTRODUCCIÓN

### A. Anatomía de la vía biliar.

Las vías biliares extrahepáticas están formadas por la vía biliar principal (hepatocolédoco) y la vía biliar accesoria (vesícula y conducto cístico). La vía biliar principal con el hepático común, la vena porta y la arteria hepática propia constituyen el pedículo hepático. A través de un trayecto retroduodenopancreático, este conducto hepatocolédoco desemboca finalmente en la segunda porción del duodeno a nivel de la ampolla hepatopancreática (Váter) con el conducto pancreático principal (Wirsung), rodeados por el músculo esfínter de Oddi, constituyendo todos estos elementos la unión biliopancreática. La vía biliar principal está constituida por un conducto en el que se distinguen dos segmentos: el conducto hepático común y el colédoco.

El hepático común es la continuación del confluente de los conductos hepáticos derecho e izquierdo o confluente biliar superior (Fig. 1). Desciende en sentido oblicuo hacia abajo, a la izquierda y un poco hacia atrás, a lo largo del borde libre del epiplón menor, y se termina en la desembocadura del conducto cístico, a nivel del borde superior del duodeno. Tiene una longitud media de 3-4 cm. Su calibre aumenta ligeramente de arriba hacia abajo y su diámetro transversal mide alrededor de 5 mm.

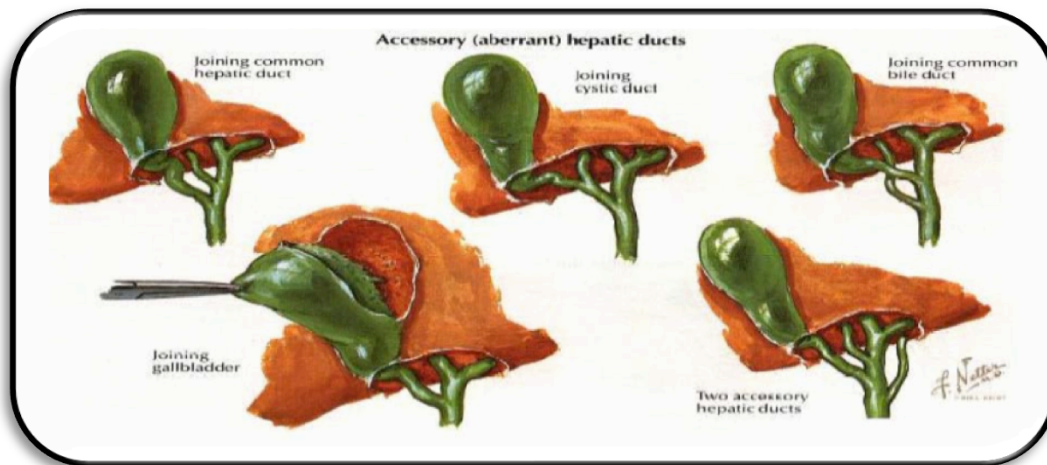


Fig.1 Variaciones anatómicas de la confluencia biliar. Imagen tomada de Netter.

El conducto colédoco es la continuación del conducto hepático común después de la desembocadura del conducto cístico (Fig. 2) y se extiende hasta la carúncula mayor de la segunda porción del duodeno. En su segmento supraduodenal, el colédoco se sitúa en el borde libre del epiplón menor, con la vena porta y la arteria hepática. Este segmento es muy corto y en ocasiones está ausente, dependiendo del nivel de desembocadura del conducto cístico. Aunque sea muy corto, se puede descubrir este extremo superior del colédoco descendiendo la primera porción del duodeno. Más abajo, desciende primero por detrás de la primera porción del duodeno, después por detrás de la cabeza del páncreas y, por último, atraviesa en oblicuo la pared duodenal para abrirse en el duodeno. En su conjunto, el conducto hepatocolédoco, que tiene 8-10 cm de largo, tiene una orientación global inferior e izquierda y describe una curva cóncava a la derecha y hacia delante. Por tanto, el segmento supraduodenal, correspondiente a la porción superior de la curva, tiene una orientación idéntica al conducto hepático común, oblicuo en sentido inferior, a la izquierda y hacia atrás. A continuación, se curva.



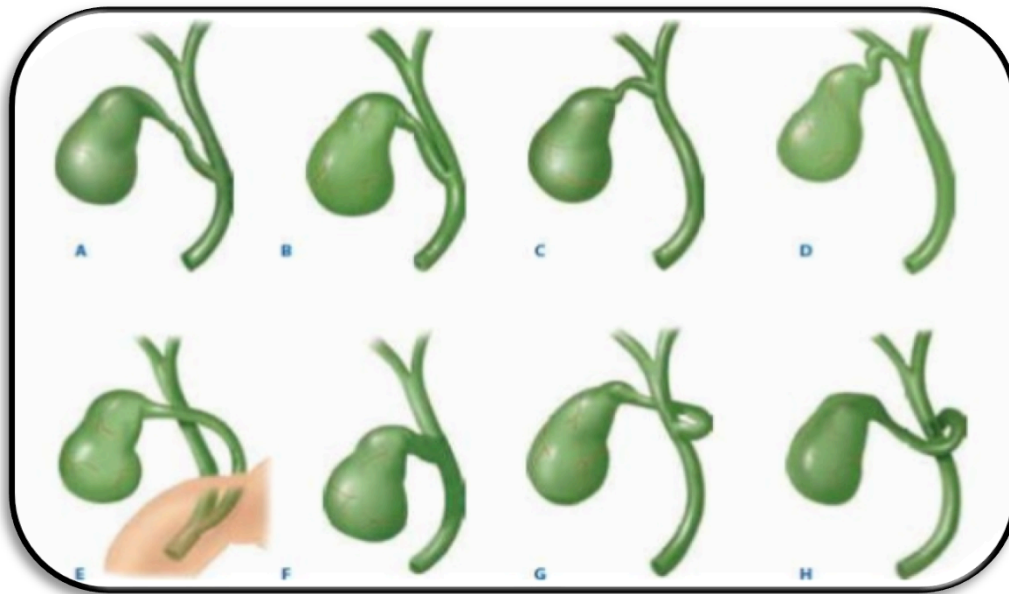


Fig. 2. Variaciones anatómicas del conducto cístico. A. Unión baja entre el conducto cístico y el conducto hepático común. B. Conducto cístico adherido al conducto hepático común. C. Unión alta entre los conductos cístico y hepático común. D. Drenaje del conducto cístico en el conducto hepático derecho. E. Conducto cístico largo que desemboca en el conducto hepático común detrás del duodeno. F Ausencia de conducto cístico. G. Conducto cístico con cruzamiento posterior respecto al conducto hepático común con desembocadura en su cara anterior. H. Conducto cístico anterior respecto al conducto hepático común con desembocadura posterior.

Tomada de principios de Cirugía Schwartz, IX edición. Mc Graw Hill Página 1137.

Las vías biliares extrahepáticas se componen de dos a cuatro túnicas, rodeadas del revestimiento seroso. Una túnica interna, mucosa, una capa submucosa (que sólo aparece al nivel de la vía biliar accesoria) y una túnica externa (fibromuscular) compuesta por fibras musculares lisas, con refuerzos circulares. Constituye esta última una capa muscular plexiforme a nivel del conducto colédoco, que se continúa en sentido inferior por las fibras musculares circulares que constituyen el músculo esfínter de Oddi.

El aporte vascular de la vía biliar es uno de los temas cruciales por su vulnerabilidad. Mientras que el parénquima hepático se nutre de una vascularización doble portal y arterial, la vía biliar sólo tiene un aporte arterial. Se sabe que el epitelio biliar es más lábil y propenso a lesiones por isquemia que el hepatocito.<sup>1-3</sup> Una hipotensión severa puede provocar una colangiopatía isquémica<sup>4</sup> con necrosis biliar, formación de molde biliar, cicatrización y estenosis. Además la hipotensión severa en donantes de órganos causan alteraciones a nivel de la microcirculación con un daño de isquemia sobreañadido. Es por ello que una correcta técnica de extracción y preservación del hígado donante es esencial para evitar una mayor morbilidad biliar.<sup>5,6</sup>

La vía biliar principal está nutrida por dos arterias principales en el lado derecho e izquierdo del colédoco (Fig. 3) que se denominan “3 en punto” y “9 en punto” en el medio anglosajón, y vienen con cierta variabilidad desde arterias de la región retroportal, retroduodenal y gastroduodenal, comunicándose con la arteria hepática derecha y menos comúnmente con la izquierda.<sup>7,8</sup> Aproximadamente el 60% del aporte arterial proviene de la gastroduodenal y el 30-40% de la arteria hepática. Tras el trasplante hepático el aporte de sangre al extremo distal de la vía biliar del donante es fundamental teniendo en cuenta que la falta de aporte arterial distal es un hecho constante. La vía biliar intrahepática y el hilio están bien nutridos por el plexo vascular peribiliar, una red de capilares que vienen de ramas arteriales terminales. Podemos decir que la región hiliar de la vía biliar está vascularizada por una arcada vascular constante a pesar de existir diferentes variaciones anatómicas.<sup>9</sup> En general se recomienda no denudar la vía biliar del donante con el fin de preservar lo mejor posible el aporte arterial. La arteria hepática propia debe disecarse tan sólo en su origen. La disección completa de las arterias hepáticas derecha e izquierda aumenta el riesgo de daño a las ramas que nutren la vía biliar que además suelen nacer

muy proximales. La arcada vascular nace a una media de 2,5-0,8 cm del origen de la arteria hepática derecha y a 1,8-0,8cm del origen de la izquierda.<sup>9</sup>

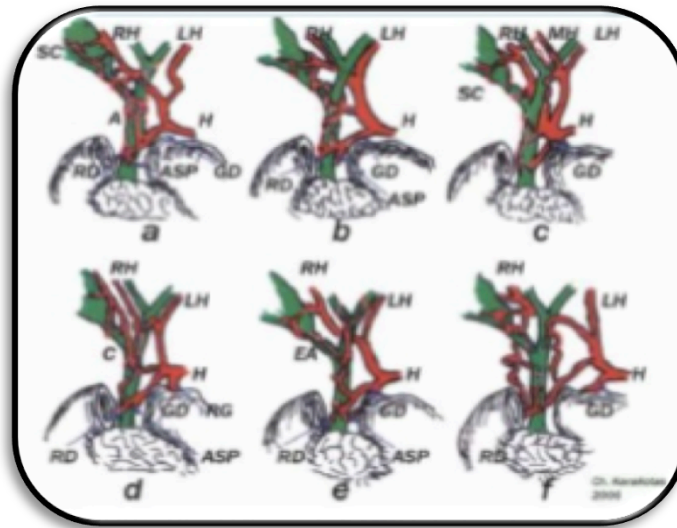


Fig. 3. Variaciones de la irrigación del conducto hepático común y conducto colédoco. GD: Arteria gastroduodenal; RH: arteria hepática derecha; LH: arteria hepática izquierda; H: arteria hepática; SC: arteria cística superficial; C: arteria cística; A: arteria marginal procedente de la gastroduodenal; ASP: arteria pancreatoduodenal superoanterior.<sup>10</sup>

Tomada de Karaliojotas et al, Liver and biliary tract surgery. Embiological anatomy to 3D Imaging and transplant innovations. Grecia: Springer Verlag;2006.

#### B. Técnicas de reconstrucción biliar en el trasplante hepático.

A pesar de la mejoría en la preservación de órganos y la estandarización de los resultados, de las cuatro anastomosis que se realizan en el trasplante hepático la reconstrucción biliar se considera el talón de Aquiles, siendo la tasa de complicaciones de un 10 al 30% dependiendo de las series.<sup>11-18</sup>

La técnica de reconstrucción biliar ha variado desde los inicios del TH, siendo fruto de diversas modificaciones. Ello muestra una vez más la preocupación que ha existido

siempre en los grupos de trasplante por disminuir la incidencia y gravedad de las complicaciones biliares. Ya desde los años 80, la hepático-hepaticostomía termino-terminal se ha estandarizado como la técnica más habitual (End-to-end ductal anastomosis). Asimismo la reconstrucción con hepaticoyeyunostomía se considera de elección en los casos de desproporción de la vía biliar del donante y el receptor, trasplante por colangitis esclerosante, atresia de vía biliar, colangiocarcinoma de vía biliar y en algunos casos de retrasplante. La hepático-hepaticostomía latero-lateral propuesta por el grupo de Neuhaus y cols.<sup>19</sup> no ha mostrado beneficios significativos frente a la termino-terminal.<sup>20</sup>

En términos generales deben darse dos condiciones indispensables para este tipo de anastomosis. Los bordes deben evitar situaciones de inflamación, isquemia o fibrosis. En segundo lugar la anastomosis debe realizarse sin tensión y con buena vascularización.<sup>21</sup> La disección debe ser cuidadosa para conservar las ramas arteriales axiales de la pared de la vía biliar común y los conductos hepáticos<sup>22</sup> y los muñones proximal y distal de la anastomosis biliar deben aproximarse sin tensión. Un factor a tener en cuenta con la anastomosis termino-terminal es el diámetro de las dos “bocas”. Hay grupos que realizan incisiones longitudinales para ampliar la boca de uno de los extremos cuando la diferencia de calibre no permite una anastomosis directa termino-terminal. Tampoco parece recomendable realizar este tipo de anastomosis cuando el diámetro de la vía biliar es muy estrecho (diámetro < 4 mm) y la hepaticoyeyunostomía podría ser una alternativa en estos casos.<sup>23</sup>

Como hemos comentado para la realización de la anastomosis es importante evitar una disección excesiva de los ductos e intentar obtener una vía biliar del donante corta para asegurar la correcta vascularización. Se recomienda realizar la sutura mediante material

absorbible, monofilamento de 5/0, 6/0 o 7/0. Asimismo se acepta que la distancia entre los puntos debe ser de 2 mm. No se han demostrado diferencias en la incidencia de complicaciones biliares, entre la realización de sutura continua o puntos sueltos, con material absorbibles o no absorbible.<sup>24-28</sup> Costaldo y cols.<sup>24</sup> compararon las anastomosis continuas frente a interrumpida en pacientes sometidos a trasplante hepático encontrando resultados similares con las dos técnicas. No se encontraron diferencias en cuanto a complicaciones biliares, supervivencia del injerto o del paciente en los grupos analizados. La tasa global de complicaciones biliares fue del 15% sin encontrarse diferencias significativas en ambos grupos en cuanto fugas biliares o estenosis.

En cuanto a la utilidad real del uso del “tubo en T de Kehr” preconizado en los inicios de la técnica,<sup>29</sup> estudios aleatorizados han demostrado que el uso sistemático del tubo de Kehr no está justificado.<sup>30,31</sup> Algunos metanálisis podrían concluir que no hay evidencia a favor de la utilización del drenaje de Kehr<sup>32-34</sup> y aunque su uso podría disminuir la incidencia de estenosis. Huang y cols.<sup>35</sup> tras revisar 5 ensayos clínicos randomizados y 8 estudios comparativos sugieren que el emplazamiento de un tubo en T reduce la incidencia de estenosis sin aumentar la incidencia de otras complicaciones biliares. Existen dos tipos principales de drenaje biliar (figura 4). El drenaje externo en T se basa en utilizar un drenaje de Kehr emplazado en la vía biliar principal con una rama corta y otra larga distal y externalizado directamente a través de una perforación realizada en la VBP del hígado donante. El drenaje interno en Y se basa en la introducción de las ramas cortas del tubo en T en la rama derecha e izquierda de la vía biliar intrahepática dejando abandonada la rama larga en el duodeno a través de la papila. El drenaje interno en Y es recomendable frente al externo en las anastomosis T-T en el trasplante hepático debido a ser menos traumático sobre la vía biliar al evitar daño adicional a la misma.<sup>23</sup>

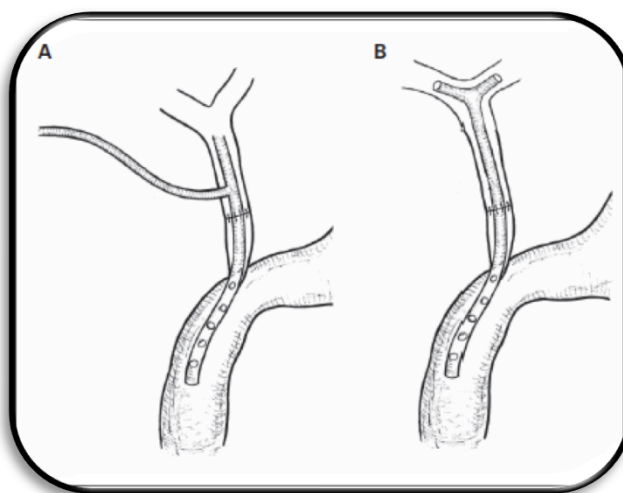


Fig. 4. A, emplazamiento de tubo en “T” externo. B, emplazamiento de tubo en “Y” interno.

### C. Complicaciones biliares post-trasplante hepático.

#### C1. Evolución histórica, implicaciones clínicas e impacto económico.

Las complicaciones biliares son la mayor fuente de morbilidad postoperatoria tras el trasplante hepático. En el año 1976, la reconstrucción biliar fue ya considerada como el “Talón de Aquiles” del trasplante hepático por Sir RY Calne,<sup>36</sup> uno de los pioneros en este procedimiento. Actualmente, casi 40 años después y a pesar de los inmesos progresos que ha desarrollado el trasplante hepático, esta afirmación mantiene su vigencia ya que las complicaciones biliares continúan siendo un serio problema debido a su elevada frecuencia, la necesidad que plantean de tratamientos a largo plazo y el potencial impacto sobre la supervivencia del paciente e injerto.<sup>37</sup>

En estudios iniciales, las tasas de mortalidad y morbilidad asociadas a las complicaciones biliares oscilaban entre el 25-30% y el 50%, respectivamente.<sup>38-42</sup> Sin embargo, a pesar de las mejoras en los últimos años de la técnica quirúrgica y del manejo médico perioperatorio de los receptores hepáticos, la reconstrucción biliar continúa siendo el lugar más frecuente

de complicaciones postoperatorias en el trasplante hepático y en estudios recientes han demostrado complicaciones biliares mantenidas en torno al 15-20% en los receptores trasplantados,<sup>43, 44</sup> con un índice de mortalidad asociado del 0-19%. Un factor a tener en cuenta para que no se haya producido un descenso drástico en la tasa de complicaciones biliares es probablemente el inicio de la era MELD (Model for end-stage liver disease), en la que se priorizan los enfermos para trasplante hepático según gravedad y riesgo de mortalidad precoz en lista de espera. Esto podría quizás deberse al aumento de complejidad de receptores y donantes, es decir, al hecho de que el status del receptor en el momento del trasplante es peor y a que el uso de donantes con criterios expandidos está ganando aceptación para limitar el impacto de la creciente mortalidad en lista de espera.<sup>45</sup> Otros estudios han sugerido también que la incidencia de complicaciones biliares difieren de forma marcada entre centros, incluso tras controlar características de donante y receptor consideradas de riesgo para complicaciones postoperatorias, evidenciando que la incidencia de complicaciones biliares podrían reducirse adoptando mejores prácticas por los diversos centros de trasplante hepático.<sup>46</sup> Numerosos factores relacionados con el donante, receptor o técnica quirúrgica han sido analizado en los últimos años observándose tasas de complicaciones más elevadas en pacientes como el uso de injertos hepáticos procedentes de donantes en asistolia,<sup>47</sup> donantes de edad avanzada, así como órganos con tiempos prolongados de isquemia fría.<sup>45</sup>

La aparición de complicaciones biliares afecta de forma significativa el pronóstico de los receptores de un trasplante hepático. Sin embargo, no sólo la supervivencia está disminuida, si no que la morbilidad asociada es muy superior, requiriendo estancia hospitalaria prolongada, procedimientos radiológicos o endoscópicos agresivos, la colocación de stents biliares, reconstrucciones quirúrgicas complejas o incluso re-trasplante por cirrosis biliar secundaria. Todos estos eventos conllevan de forma

inequívoca un impacto económico significativo en los costes derivados del trasplante hepático, así como una dramática reducción de la calidad de vida de los enfermos. Así, se ha estimado que el impacto económico total de las complicaciones biliares sobre el gasto global a 1 año del trasplante hepático aumenta de \$88.658 a \$146.046 ( $P < 0.005$ ).<sup>48</sup>

## C2. Mecanismos de la complicación biliar.

El aporte vascular de la vía biliar es el punto más vulnerable del árbol biliar. Mientras que el parénquima hepático recibe vascularización doble por un lado del sistema venoso portal y por otro de la arteria hepática, los conductos biliares solo reciben aporte arterial a través de un sistema vascular lineal a partir de una red peribiliar dependiente de arterias que se seccionan durante el trasplante hepático tanto en el donante como en el receptor<sup>49</sup> (fig. 5). Además, las sustancias de preservación utilizadas presentan tasas diferentes de viscosidad que como se ha visto, alteran la microcirculación tisular.<sup>45</sup> En este sentido, hay que entender que durante el trasplante hepático, la arteria hepática del receptor se secciona lo más proximal al hígado posible. Así mismo, la arteria hepática del donante se conserva en su totalidad, así como también la totalidad de la arteria gastroduodenal y del tronco celiaco. Sin embargo, al llegar el momento de realizar la anastomosis arterial, es muy frecuente seccionar la arteria del receptor a nivel de alguna bifurcación, e incluso cerrar el flujo a la arteria gastroduodenal para aumentar el flujo en la arteria hepática; así mismo, la arteria del donante no se suele usar entera, siendo variables los lugares de sección y anastomosis. En general, las arterias gastroduodenales de donante y receptor suelen ver sus colaterales comprometidas, resultando variable la afectación de la vasculatura peribiliar secundaria a la necesidad de optimizar la anastomosis arterial. Además, se ha demostrado que el epitelio biliar es más susceptible al daño isquémico que los hepatocitos,<sup>1-3</sup> y por lo tanto, episodios



de hipotensión severa pueden originar colangiopatía isquémica<sup>4</sup> con necrosis biliar, formación de moldes y desarrollo de estenosis aisladas o multifocales.

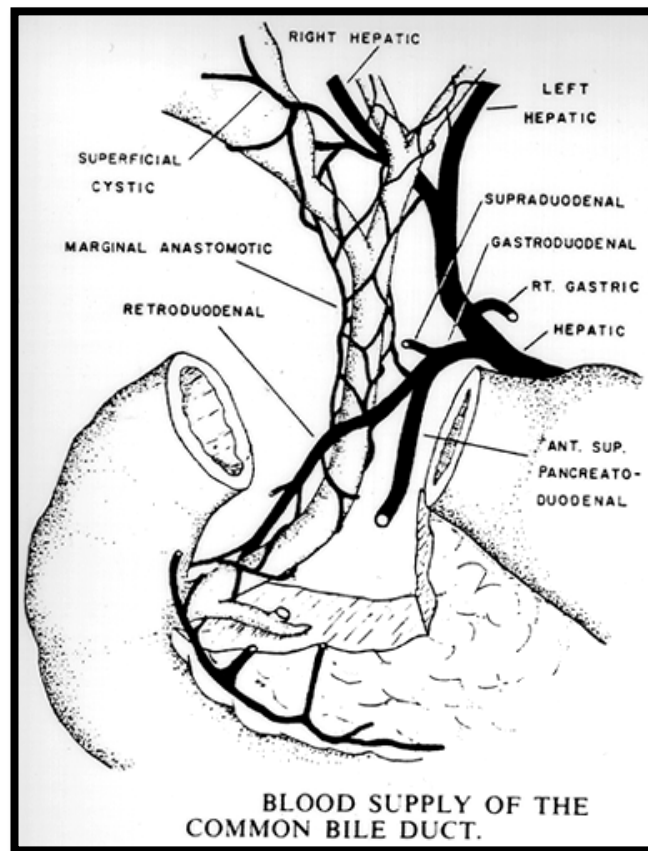


Fig. 5. Esquema de la forma de vascularización más frecuente de la vía biliar común.

### C3. Tipos:

Los diferentes sistemas de clasificación de las complicaciones biliares se basan en el momento de aparición, localización o etiología. Una complicación específica tiene un tiempo predominante para su manifestación clínica (Fig. 6), siendo las complicaciones tempranas asociadas predominantemente al resultado de problemas técnicos, mientras que las complicaciones de tipo obstructivo suelen ser más tardías. El espectro de complicaciones biliares comprende las estenosis y fístulas biliares (que son las más frecuentes), la colangiopatía isquémica, disfunción del esfínter de Oddi, hemobilia, y la obstrucción biliar

por mucocelos del conducto cístico, cálculos o barro biliar.<sup>28, 50</sup> Una forma apta de clasificarlas serían por su localización en complicaciones de tipo anastomótico y no anastomótico. El resto de complicaciones que no pueden enmarcarse en ninguno de estos dos grupos serán descritas en un tercer apartado.

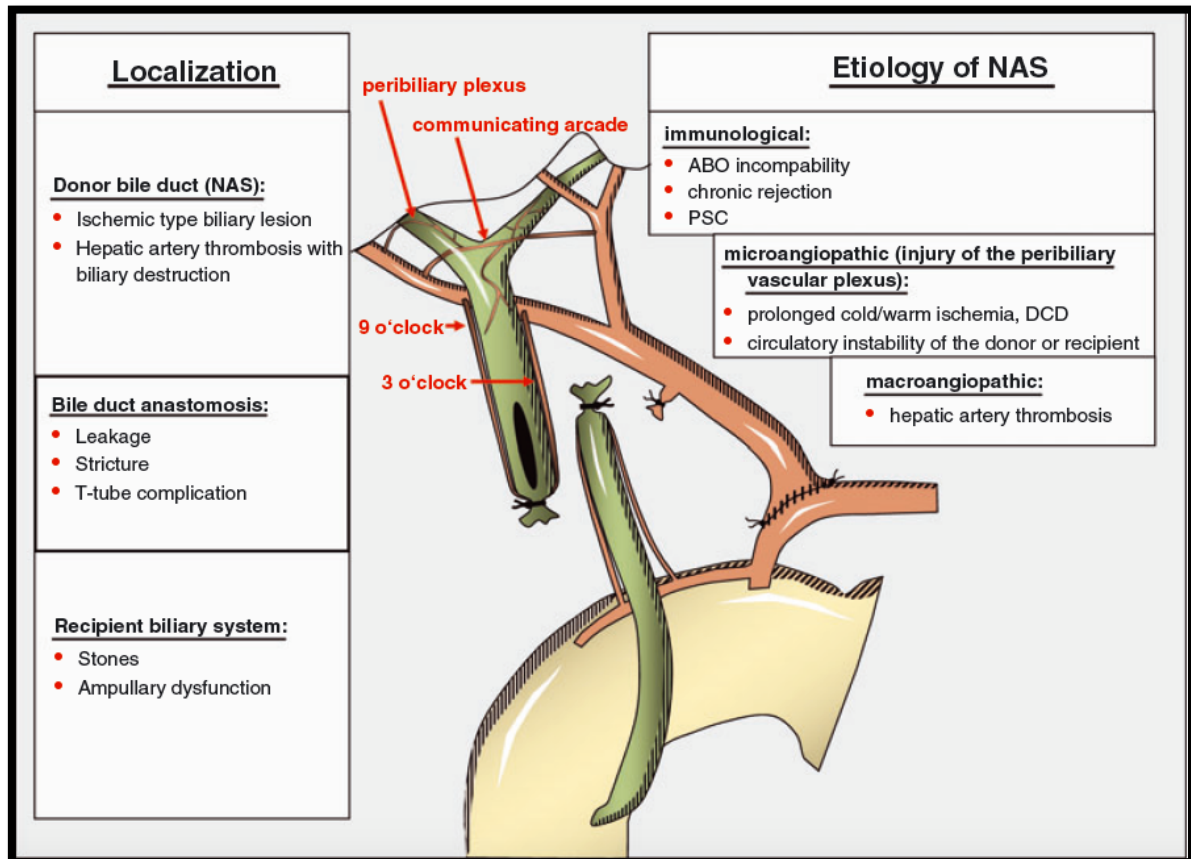


Fig. 6. Aporte vascular de la vía biliar tras el trasplante hepático, clasificación de las complicaciones biliares y etiología de las estenosis no anastomóticas.<sup>46</sup>

## 1. Anastomótica

### - Fístula biliar

Las fístulas biliares pueden aparecer a nivel de la anastomosis, en la inserción del tubo en T, en el conducto cístico o en la superficie de corte de los injertos hepáticos parciales. En una revisión de la literatura reciente de más de 11000 trasplantes hepáticos, se calculó una

incidencia del 8,2%, y la mayoría de las fístulas biliares fueron diagnosticadas en el primer mes tras el trasplante hepático o tras la retirada del tubo en T,<sup>51</sup> siendo infrecuente aunque también han sido documentadas formas tardías con diagnóstico de fístula hasta los 6 meses.<sup>52</sup> Un análisis reciente<sup>47</sup> sugirió que la incidencia de fístula biliar ha disminuído del 7,5% en la era pre-MELD al 4,9% en la era MELD ( $p=0,02$ ). Además, el uso de un tubo en T fue el factor de riesgo más relevante (OR 3,38) para el desarrollo de fístulas biliares y que en la era MELD su uso se redujo. Sin embargo, menos del 10% de las fístulas biliares ocurrieron en las 2 semanas posteriores a la cirugía (media de 102 días), por lo tanto la mayoría de ellas ocurrieron presumiblemente tras la retirada del tubo en T.<sup>47</sup>

- Estenosis

A pesar de la estandarización de la técnica quirúrgica y las mejoras en la selección de donantes y preservación de injertos, la incidencia de estenosis anastomótica se ha mantenido muy estable a lo largo de los últimos años, situándose en torno al 13% tras el trasplante hepático.<sup>52</sup> Cuando aparecen en el postoperatorio temprano suelen ser el resultado de un fallo en la técnica quirúrgica, mientras que en etapas tardías suelen ser debidas como consecuencia de la inflamación local originada por isquemia, fuga biliar previa u otros factores. Las manifestaciones clínicas aparecen en los primeros 6 meses,<sup>51, 53</sup> pero ocasionalmente ocurren tras años de seguimiento.<sup>51, 52</sup> Verdonk documentó una incidencia acumulada de 6.6%, 10.6%, y 12.3% tras 1, 5 y 10 años, respectivamente.<sup>54</sup>

## 2) Estenosis no anastomótica

Las estenosis no anastomóticas son la complicación biliar más temida, debido a la dificultad para prevenirla, el difícil manejo y el mal pronóstico que presentan. Si bien otro tipo de complicaciones biliares no parecen influir en la supervivencia del paciente ni del injerto, las estenosis no anastomóticas se asocia a una necesidad de retrasplante del 60-

70%, y a pesar de ello, con una mortalidad próxima al 50%.

Englobamos en este apartado todas aquellas estenosis no localizadas a nivel de la anastomosis biliar denominadas en la literatura como estenosis de tipo isquémico, estenosis intrahepática o clásicamente colangiopatía isquémica postrasplante.<sup>55, 56</sup> Su incidencia oscila entre un 5-20% según las series a lo largo de los últimos años dependiendo de la era del análisis, criterios de inclusión, selección de donantes... Sin embargo, recientemente la incidencia de estenosis no anastomóticas parece haberse visto incrementada en algunos centros debido a una aceptación más liberal de donantes de avanzada edad, donantes con criterios expandidos y donantes por muerte cardíaca.<sup>47, 57, 58</sup>

Aunque inicialmente se creyó que las estenosis no anastomóticas se asociaban a trombosis de la arteria hepática, solo el 40-50% de ellas se asocian a dicha trombosis. Para su clasificación usaremos la establecida por algunos autores que se basan en diferenciar las formas de estenosis según la zona de vía biliar donde aparecen, pero desde un punto de vista práctico podemos clasificarlas en un tipo hiliar o difusa,<sup>35, 59</sup> que además refleja la diferente fisiopatología de ambas formas. Por otro lado, el momento de presentación también parece relacionarse con la etiología y con el pronóstico. Así, las estenosis no anastomóticas de inicio precoz (anteriores a un año postrasplante) parecen relacionarse con factores de tipo isquémico<sup>59</sup> y suelen ser de tipo hiliar. Estos factores isquémicos pueden ser debidos a la trombosis de la arteria hepática o daño isquémico durante la preservación. Las formas más severas de estenosis no anastomótica ocurren por trombosis de la arteria hepática precozmente, produciéndose una ausencia de flujo arterial colateral a la vía biliar con resultado de necrosis biliar parcial o completa. Por el contrario, las formas de estenosis no anastomóticas a nivel microangiopático precoz se caracteriza por daño al plexo microvascular peribiliar con resultado de la llamada colangiopatía isquémica. Así pues, se han definido múltiples factores que contribuyen al daño isquémico y son identificados

como factores de riesgo de las estenosis biliares no anastomóticas: Daño isquemia-reperusión, uso de solución de reperusión Universidad de Wisconsin (vs baja viscosidad de HTK), reconstrucción en Y de Roux, infección postoperatoria por CMV,<sup>60</sup> edad del donante,<sup>61, 62</sup> órganos procedentes de donantes con criterios expandidos<sup>47</sup> y tiempos de isquemia fría y caliente.<sup>18, 63</sup>

Las estenosis no anastomóticas tardías, es decir, las que se presentan después del primer años postrasplante, relacionándose más con factores inmunológicos como pueden ser componentes de autoinmunidad previos (trasplante por hepatitis autoinmune o colangitis esclerosante primaria, infección por CMV, rechazo, trombosis tardía de la arteria hepática completa o parcial...).<sup>54, 60</sup> Característicamente las ENA tardías suelen afectar de forma más difusa la vía biliar intrahepática, con el aspecto radiológico característico de estenosis y dilataciones intrahepáticas difusas.

### 3) Otras

Dentro del capítulo de otras complicaciones biliares, se describe habitualmente la disfunción del esfínter de Oddi con una incidencia aproximada del 2-7% tras el trasplante hepático.<sup>64</sup>

Este ha sido siempre un diagnóstico controvertido asociado a denervación de la vía biliar del receptor, inflamación o fibrosis con resultado de estenosis del esfínter de Oddi.

Otras complicaciones infrecuentes descritas en la literatura, especialmente en forma de casos, son el mucocoele, hemobilia (secundaria a biopsias o colangiografía percutánea...), y el molde biliar (casts).<sup>14, 15, 18</sup>

## D. Lesión isquemia-reperusión y vía biliar.

La lesión hepática por isquemia-reperfusión durante el trasplante hepático ocurre en tres periodos diferentes.<sup>65</sup> El primero aparece durante el explante hepático en el donante y la preservación del órgano a una temperatura que oscila entre los 0 y 4°C, con un periodo de isquemia fría variable pero que habitualmente suele ser prolongado. Durante la anastomosis vascular en el implante, una vez el injerto es retirado del hielo, este relativo corto periodo de tiempo de isquemia caliente en el que la temperatura cambia de los 12,5°C durante las anastomosis venosas (suprahepáticas y porta) a los 34°C una vez la anastomosis arterial ha sido realizada, corresponde a la segunda etapa de lesión isquemia-reperfusión.<sup>66</sup> Por último, el tercer periodo viene representado por el tiempo de revascularización hepática hasta que la temperatura en el injerto se estabiliza.

La lesión hepática por isquemia-reperfusión tras el trasplante hepático causa hasta el 10% de los fallo hepáticos precoces y puede llevar al rechazo agudo o crónico.<sup>67</sup> Mientras que los hepatocitos reciben flujo sanguíneo doble procedente tanto de arteria hepática como del sistema portal, los colangiocitos son perfundidos exclusivamente por flujo arterial, probablemente por esta razón, parecen ser más sensibles al proceso de isquemia que los hepatocitos. Además, las células del epitelio biliar son altamente susceptibles a la reoxigenación tras la anoxia,<sup>3, 63</sup> que se asocia con un aumento de la producción de reactivos de oxígeno en estas células durante la revascularización, y este acúmulo de radicales libres puede ser el responsable de una mala función precoz del injerto tras el trasplante hepático.<sup>68</sup> A su vez, esta producción aumentada de radicales de oxígeno se asocia a una disminución del nivel basal intracelular de glutatión, el principal thiol no proteico con un papel importante en la prevención del daño oxidativo asociado a la isquemia celular que ocurre durante la preservación del injerto, reduciendo la producción celular del tracto biliar de estos radicales libres.<sup>3</sup> El glutatión presente en la bilis, podría prevenir la lesión de los colangiocitos por neutralizar los efectos citotóxicos de los

radicales de oxígeno en el tracto biliar.<sup>3, 69</sup>

La isquemia causa por sí misma, un proceso localizado de alteraciones en el metabolismo celular, que resulta en el consumo de glucógeno, disminución en el aporte de oxígeno y deplección de los depósitos de adenosin trifosfato.<sup>70</sup> Por otro lado, la reperfusión consiste en una fase lesiva inicial y otra tardía, que ocupa entre las 6 y 48 horas posteriores a la reperfusión, que agrava el daño celular causado por el periodo de isquemia.<sup>65, 67, 71, 72</sup> Aunque todos los tipos de isquemia coparten mecanismos comunes, la isquemia fría en el hígado se caracteriza principalmente por daño a nivel de las células sinusoidales y alteración de la microcirculación, mientras que la isquemia caliente provoca daño hepatocelular mediado por moléculas citotóxicas derivadas de las células de Kupffer.<sup>2, 72, 73</sup> La lesión por isquemia-reperfusión hepática afecta necesariamente al plexo vascular peribiliar que origina la activación de las células endoteliales, las cuales inician una cascada de eventos que tendrán como resultado trombosis microvascular, alteraciones microcirculatorias y de nuevo isquemia.<sup>3, 74</sup> La apoptosis celular en los colangiocitos producida tras la lesión de isquemia-reperfusión hepática por isquemia fría y caliente parece ser un factor relevante en la patogénesis de las lesiones biliares de tipo isquémico tras el trasplante hepático<sup>75</sup> (15). propiciando lesión en el epitelio biliar<sup>69, 76</sup> que se ha asociado fuertemente con el desarrollo de estenosis biliares incluyendo la colangiopatía isquémica.<sup>77, 78</sup>

#### E. Fisiopatología de la oxigenación tisular. Estudios de microoxigenación tisular.

En tejidos biológicos, la luz infraroja se dispersa altamente y es escasamente absorbida. La dispersión es debida a la arquitectura del tejido cuya heterogeneidad desemboca en fluctuaciones en propiedades ópticas. La absorción es causada por varios cromóforos tisulares. En longitudes de onda en rango de 700-900 nm la hemoglobina oxigenada y la

hemoglobina desoxigenada domina la absorción óptica. La luz en estos rangos de longitud de onda puede penetrar hasta varios centímetros en el tejido, lo que proporciona una herramienta útil para cuantificar parámetros tisulares a nivel local tales como la concentración de hemoglobina y la saturación de oxígeno. Gracias a que permite mediciones en tiempo real, características no invasivas, la tecnología con luz infrarroja se ha extendido para usos de aplicación clínica como la función cerebral, monitorización de colgajos tisulares en cirugía plástica, oximetría fectal trans-abdominal, etc.<sup>79-85</sup>

Tres metodologías comunes en el uso de luz infrarroja se han desarrollado para monitorizar el volumen tisular en profundidad desde la superficie: onda continua, migración de fotones en el tiempo y frecuencia de migración de fotones. La diferencia entre ellos es la dependencia temporal de la intensidad de la fuente. La migración de fotones en el tiempo y frecuencia de migración de fotones envía la información temporal asociada con la propagación de la luz a través del tejido, el primero discretamente y el segundo continuamente. Mientras que la información de propagación temporal es potencialmente útil, el coste de los artículos y la extracción de información son las mayores barreras para la utilidad clínica. Por otra parte, la mayoría de algoritmos de reconstrucción lineal necesitan medidas basales en tejidos normales y solo informa de desviaciones al compararlas con muestras de tejido normal, no por las mediciones absolutas.

La fluorescencia óptica ha sido utilizada para desarrollar un tipo de sensores de oxígeno para la monitorización cuantitativa de oxígeno en tejidos, fluidos fisiológicos, cultivos celulares y muestras in Vitro. Estos sensores están compuestos de Ruthenium triclorídico envuelto en polímero de silicona, y además tienen diodo de luz azul que genera pulsos de luz para inducir fluorescencia desde el ruthenium luminóforo. Su función oximétrica la realizan basándose en el principio por el que la presencia de oxígeno en fluidos tisulares pueden captar la luz emitida y la vida media de los pulsos de fluorescencia son



inversamente proporcionales a la PO<sub>2</sub> en los alrededores del sensor.

La supervivencia de las células tisulares depende del adecuado aporte de oxígeno a la mitocondria. En los últimos años, se han desarrollado numerosas tecnologías para la monitorización de la oxigenación en diferentes estadios de transporte desde el exterior a las células tisulares. Más importante, la medición de la presión parcial de oxígeno en el tejido proporciona una medida de la disponibilidad de oxígeno disponible a nivel celular. La micromedición de la tensión de oxígeno tisular ha sido descrita en múltiples modelos (shock, tumorales, flaps musculares, cerebrales, hepáticos, isquémicos,...). En este sentido, son más de 250 los artículos que demuestran la utilidad del uso de estos instrumentos de medición "a tiempo real" tanto "in vitro" como "in vivo" y su aplicabilidad a múltiples campos de la medicina; así mismo, también está ampliamente validada su correcta correlación con otros instrumentos de micromedición tisular.<sup>86</sup> Así, un estudio experimental reciente sobre modelos de shock en roedores mostró que dichos parámetros son inherentes a la capacidad de respuesta a la isquemia y que son más válidos que determinaciones generales.<sup>87</sup> En humanos, únicamente se han desarrollado estudios en ojo. Así, el grupo de Washington, ha podido demostrar como la vitrectomía implica un aumento de la tensión ocular de oxígeno, con la consiguiente formación de cataratas<sup>88</sup> y como en la población diabética, por el contrario, una baja tensión ocular de O<sub>2</sub> contribuye también a la formación de cataratas.<sup>89</sup>

En vía biliar no se ha descrito el uso de estas dos técnicas de medición "a tiempo real" e "in situ" de la viabilidad microvascular tisular, por lo que sería óptimo poder combinarlas con las técnicas histológicas rutinarias o de inmunohistoquímica para poder determinar si la vía biliar tiene lugares de hipoperfusión, y si estos lugares cambian con las condiciones de donante, trasplante y receptor.

Entre las diferentes tecnologías desarrolladas hasta el momento, el dispositivo OxyLite TM Pro proporciona una medición en términos absolutos del oxígeno disuelto en mmHg o kPa. Utilizamos sondas de 350nm de diámetro, compatibles con este dispositivo, fueron sensores flexibles, mínimamente invasivos que combina mediciones de oximetría con compensación automática de temperatura. In vivo realiza lecturas directas del oxígeno disponible a nivel celular y tisular, en contraste a otros dispositivos que proporcionan únicamente el dato de saturación de oxígeno sanguíneo, el cual meramente describe el estado de oxigenación de la hemoglobina.



## 2. HIPÓTESIS

La vascularización de la vía biliar es especialmente problemática por ser un sistema lineal. Especialmente en el trasplante hepático, el riesgo de disminuir de forma significativa la circulación arterial biliar es elevado, pues las arterias hepática y gastroduodenal en la mayoría de los casos son subsidiarias de actuaciones quirúrgicas tanto en el injerto donante como en el receptor. Es por ello que la anastomosis biliar en el trasplante hepático es una anastomosis de alto riesgo con alta incidencia de complicaciones, lo que incrementa de forma significativa la morbi-mortalidad del trasplante hepático y disminuye de forma importante la eficiencia del mismo.

La idiosincrasia de la vascularización de la vía biliar principal hace que sea lógico pensar que en regiones distales, la vascularización sea más precaria, y, por tanto, la posibilidad de complicaciones asociadas a una anastomosis precaria sea mayor. Así mismo, también sería lógico pensar que en regiones más distales a los bordes de sección, y proximales a los troncos arteriales principales, la vascularización arterial biliar tenga un mayor flujo, y sea de mayor calidad, facilitando que la anastomosis sea de mejor calidad. En este sentido, también podríamos pensar que existen factores técnicos, del donante y del receptor que afectarán a la calidad de la anastomosis biliar.

Como **hipótesis principal** planteamos que la vascularización en el extremo terminal de los bordes de la vía biliar del donante y receptor es un área hipovascularizada, con una microoxigenación tisular deficiente, que mejorará en terrenos más distales a dicho borde y, por tanto, proximales a los troncos arteriales principales. Así mismo, también planteamos como **hipótesis secundarias** que los injertos procedentes de donantes con criterios expandidos, así como factores de riesgo arterial, pueden influir de forma negativa sobre la microvascularización biliar.



### 3. OBJETIVOS

El **objetivo principal** del presente estudio de tesis doctoral es:

1. Analizar la microoxigenación tisular en puntos diferentes de la vía biliar del injerto y de la vía biliar nativa del receptor mediante análisis de tensión de oxígeno tisular.

Como **objetivos secundarios** de este estudio de tesis doctoral:

1. Evaluar si existen diferencias en el estado de microoxigenación tisular de la vía biliar de acuerdo a factores del receptor, donante y de los procesos de extracción, trabajo de banco, e implante hepáticos mediante parámetros de microoxigenación tisular "in-vivo" y análisis histopatológico.
2. Analizar si existen patrones repetitivos de situación de la vía biliar principal en los que la oxigenación alcance un valor significativamente superior a los márgenes.
3. Evaluar si existen puntos de corte significativos, a partir de los cuales disminuya de manera significativa la aparición de complicaciones biliares, tanto del tipo estenosis como fístulas.



#### 4. PACIENTES Y MÉTODOS

##### a. Diseño del estudio

Con la intención de alcanzar los objetivos marcados, se diseñó un estudio observacional longitudinal prospectivo de cohortes.

##### b. Población de estudio

Para realizar el presente estudio, se seleccionó de forma prospectiva a una muestra de la población de trasplantados hepáticos desde el inicio del proyecto (Noviembre 2013) hasta la finalización del mismo (Febrero 2015). Actualmente el Hospital Universitario Reina Sofía realiza de forma estable una media de 50-60 trasplantes hepáticos anuales, con lo que pretendíamos cumplir el objetivo de incluir entre 20 y 30 casos a la finalización del mismo.

##### c. Criterios de inclusión y exclusión

Fueron incluidos todos aquellos pacientes mayores de 18 años sometidos a trasplante hepático por cirrosis secundario a cualquier etiología, siendo el único criterio de exclusión aquel que implicase la realización de una anastomosis biliar no colédoco-coledociana, entre ellos:

- 1) Retrasplantes que impliquen hepático-yeyunostomía.
- 2) Receptores con colangitis esclerosante primaria.
- 3) Receptores de injertos parciales que requieran derivación bilio-digestiva, tanto splits, reducidos y donantes vivos.



Los receptores con diagnóstico de carcinoma hepatocelular como indicación principal del trasplante que hubieran recibido o no tratamientos previos al trasplante (resección, QETA, alcoholización, radiofrecuencia...) fueron incluidos en el estudio, no constituyendo estas circunstancias en ningún caso criterio de exclusión. La presencia de patología concomitante en el receptor tampoco supuso criterio de exclusión en ningún caso.

#### d. Consideraciones técnicas

Para no artefactar los resultados de las mediciones, evitar sesgos y aumentar la validez interna del presente proyecto, no se realizaron modificaciones al procedimiento del trasplante y del post-trasplante de nuestro centro.

En el donante, realizamos técnica de extracción en bloque con canulación aórtica y de vena mesentérica inferior o superior, con perfusión combinada arterial y portal con HTK tras sección, para evitar así estasis venoso de las porciones infrahepática y suprahepática de la vena cava. Tras verificar la adecuada perfusión del órgano, se procede a su extracción y transporte en medio frío. El tiempo de isquemia fría comenzó a contar a partir del clampaje aórtico. El trabajo de banco para adecuación del órgano al trasplante se realizó manteniéndolo en condiciones de frío.

El implante, se basó en el tipo de trasplante ortotópico hepático con preservación de vena cava tipo piggy-back, realizando de forma rutinaria shunt porto-cavo y reperfusión portal. Tras la hepatectomía del órgano afecto, se procede al implante del injerto, realizándose las anastomosis termino-terminal cava-venas suprahepáticas, anastomosis termino-terminal porto-portal, anastomosis termino-terminal arterial y por último la anastomosis coledoco-coledociana termino-terminal. La anastomosis biliar se llevó a cabo sin tutorización con Kehr ni drenaje biliar interno, utilizando una sutura monofilamento reabsorbible de 5/0.

En el post-trasplante, los pacientes pasan a la Unidad de Cuidados Intensivos, donde se realiza vigilancia intensiva durante los primeros días del post-trasplante; aquí se comienza terapia inmunosupresora que en nuestro centro, de forma general, se basa en doble o triple terapia con esteroides y Tacrolimus +/- mofetil micofenolato asociados o no a inducción con anti CD-25 si sospecha de disfunción renal pre-trasplante o de alto riesgo para desarrollarla. Los episodios de rechazo celular agudo tras confirmación histológica, fueron tratados con metilprednisolona 0,5-1g diario durante 3 días.

e. Factores pronósticos y determinaciones de laboratorio

Para alcanzar los objetivos marcados fueron recogidas y analizadas variables tanto del donante como del receptor, así como factores técnicos de la donación y del implante del injerto. Variables relacionadas con la evolución postoperatoria del paciente a corto y medio plazo también fueron analizadas.

Durante el post-trasplante, se realizaron las mediciones bioquímicas y de hematimetría estándar. Para el presente proyecto, se analizaron específicamente marcadores de bioquímica sanguínea con perfil de enzimas hepáticas y de colestasis en los días +1,2,3 y 15. (Tabla 1)

TABLA 1. FACTORES PRONÓSTICOS ANALIZADOS			
DONANTE	RECEPTOR	INJERTO	POST-TRASPLANTE
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Edad</li> <li>▪ Sexo</li> <li>▪ IMC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Edad</li> <li>▪ Sexo</li> <li>▪ IMC</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Fecha del trasplante</li> <li>▪ Tiempo isquemia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Tratamiento inmunosupresor</li> </ul>

<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Diabetes Mellitus</li> <li>▪ HTA</li> <li>▪ Cardiopatías</li> <li>▪ Enfermedad Cardiovascular</li> <li>▪ Dislipemia</li> <li>▪ Tabaquismo</li> <li>▪ Alcoholismo</li> <li>▪ Días en UCI</li> <li>▪ Uso de Dopamina</li> <li>▪ Uso de Adrenalina / Noradrenalina</li> <li>▪ Niveles de Sodio</li> <li>▪ Bilirrubina total</li> <li>▪ AST / ALT</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Diabetes Mellitus</li> <li>▪ HTA</li> <li>▪ Cardiopatías</li> <li>▪ Enfermedad Cardiovascular</li> <li>▪ Dislipemia</li> <li>▪ Tabaquismo</li> <li>▪ Alcoholismo</li> <li>▪ MELD pre-tx</li> <li>▪ AST / ALT / Creatinina / Niveles de Sodio / Bilirrubina total / Actividad de Protrombina pre-tx</li> <li>▪ Serología VHC y VHB.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>fría</li> <li>▪ Transfusión concentrado de hematíes</li> <li>▪ Transfusión plasma</li> <li>▪ Transfusión plaquetas</li> <li>▪ Macroflujometría doppler arterial</li> <li>▪ Ligadura de la arteria Gastroduodenal.</li> <li>▪ Anomalía arterial injerto</li> <li>▪ Gasometría arterial tras montaje biliar: pO2, SatO2, Lac y TA.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Estancia en UCI</li> <li>▪ Estancia hospitalaria</li> <li>▪ Uso de Dopamina</li> <li>▪ Uso de Adrenalina / Noradrenalina</li> <li>▪ Rechazo agudo</li> <li>▪ Complicaciones quirúrgicas</li> <li>▪ Complicaciones biliares</li> <li>▪ Reintervención</li> <li>▪ AST / ALT / Creatinina / Nivel de Sodio / Bilirrubina total / Actividad de Protrombina</li> <li>Días +1, 2, 3 y 15</li> <li>▪ ECO Doppler</li> </ul>
---	--	--	---

			días +1 y +5 ▪ CRMN días +15 y +90
--	--	--	--

Tabla. 1. Factores pronósticos analizados en donante, receptor, fase quirúrgica y postoperatorio.

#### f. Determinaciones radiológicas

Así mismo, inmerso en el protocolo de post-trasplante hepático del Hospital Universitario Reina Sofía, se procederá a realización de ecografía abdominal en escala de grises y doppler entre las primeras 24-48 horas post-trasplante y pasados 5 días de la cirugía. Además, también incluido en el protocolo de nuestro centro se realizó Colangio-Resonancia Magnética Nuclear a todos los pacientes en los días +15 y +90 post-trasplante hepático.

#### g. Mediciones oximétricas

El análisis de tensión tisular de oxígeno fue realizado mediante la aplicación de una sonda de diámetro menor de 0,3 mm (**Fig.7**), podremos medir la tensión tisular de O<sub>2</sub>. Así, pulsos cortos de luz LED se transmiten a lo largo de una fibra óptica para excitar un fluoróforo con platino situado en la punta del sensor. La emisión resultante de la luz fluorescente, modificada por la presencia de moléculas de oxígeno, viaja a través de la fibra y es detectada por el monitor. La vida media de la fluorescencia es inversamente proporcional a la concentración de oxígeno disuelto, y es interpretada para proporcionar un valor absoluto de pO<sub>2</sub> en mmHg o kPa. Así mismo, dado que la medida se basa en vida media de la

fluorescencia en lugar de intensidad, esta medición es relativamente constante frente a artefactos como variación de la intensidad de luz del entorno, luz ambiente o gradaciones de luz. Dado que la vida media de la fluorescencia es artefactada por las variaciones tisulares de temperatura, usaremos medidores combinados que integran y monitorizan de forma paralela la temperatura y la pO<sub>2</sub>, permitiendo una corrección automática (**Fig.8**).

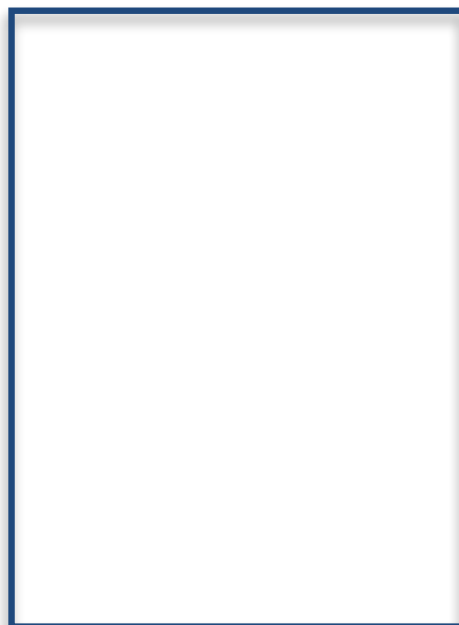
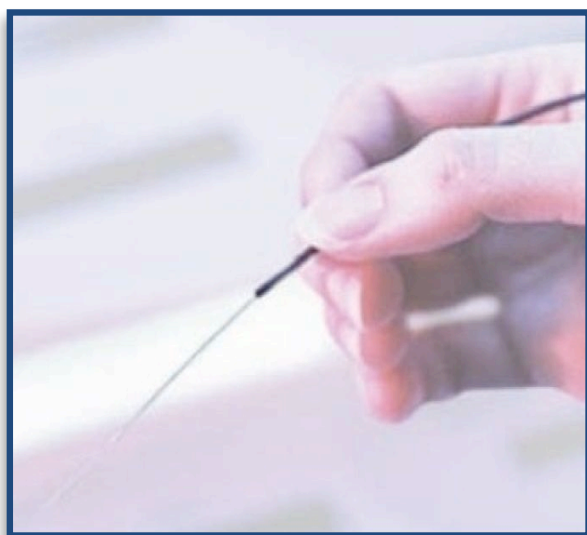


Fig.7. Sonda de punta fina Oxylite de medición de presión parcial de oxígeno (mmHg) con reajuste automático de temperatura.

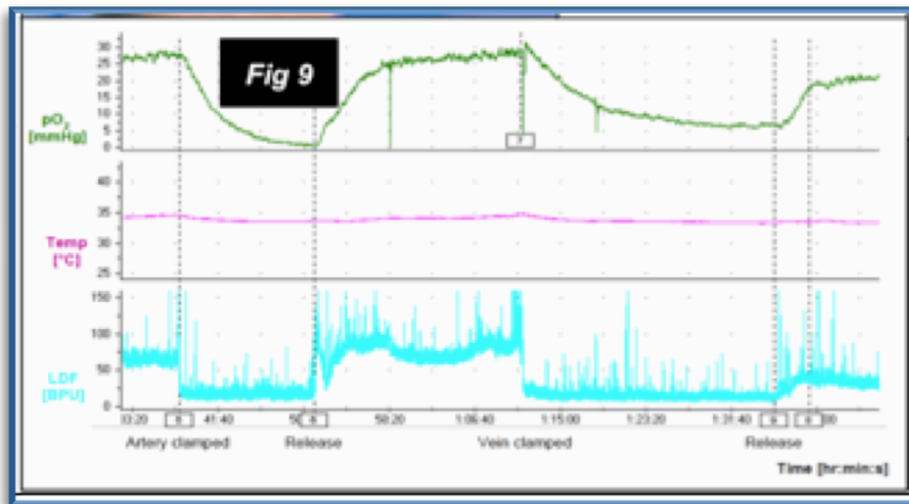


Fig. 8. Gráfica de monitorización de tensión parcial de oxígeno con ajuste automático de temperatura.

Para la obtención de resultados de tensión de oxígeno tisular e interpretación de resultados usamos las sondas de medición de presión parcial de oxígeno serán conectadas al respectivo OxyLite (**Fig. 9**). En los mismos, se codificarán mediciones cada segundo de parámetros, previamente introducida la calibración particular de cada sonda mediante código de barras específico (incluido en el producto). Tras ello, los datos serán recogidos mediante el Powerlab 4/26 (**Fig. 10**) y procesados mediante software especial compatible con nuestros dispositivos informáticos personales. Así, las mediciones esperadas serán de aspecto similar a las descritas en artículos previos de flaps musculares o de perfusión cerebral (**Fig. 11**).



Fig. 9. Dispositivo OxyLite Pro.



Fig. 10. Consolas Powerlab 4/26 para procesamiento de resultados a través de un software de OxyLite compatible.

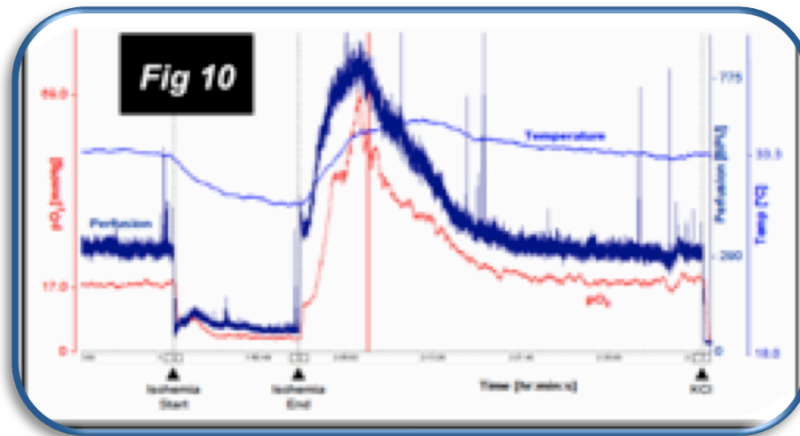


Fig. 11. Gráfica de monitorización de tensión parcial de oxígeno con ajuste automático de temperatura en flap muscular.

Para cumplir los objetivos del proyecto de investigación, los lugares de medición (fig.12) de tensión tisular de O<sub>2</sub> fueron: bordes de anastomosis biliar (en donante y receptor, fig13) y aproximadamente 1 cm por encima y debajo de dichos bordes (Fig. 14). Para evitar sesgos, las mediciones fueron realizadas por cirujanos independientes del cirujano principal, en el momento en el que la anastomosis biliar fue finalizada según la técnica que fuese considerada más adecuada.



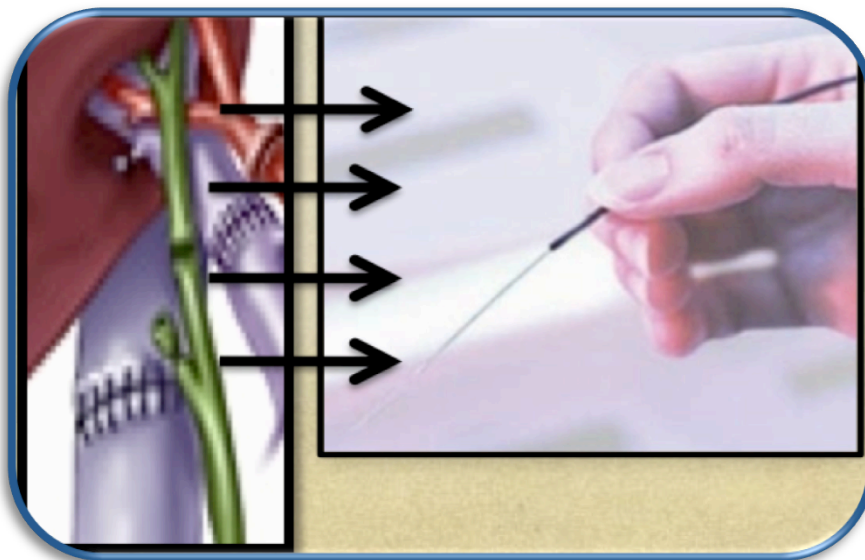


Fig. 12. Localización de las cuatro mediciones realizadas en cada acto quirúrgico: bordes anastomóticos de vía biliar y a un centímetro distal a estas mediciones en donante y receptor.

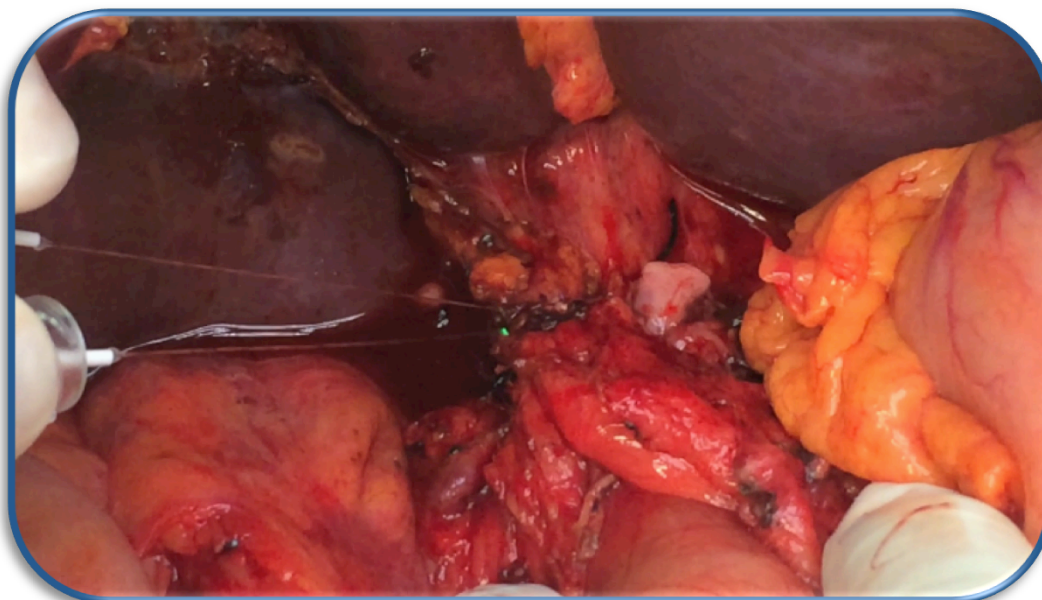


Fig. 13. Imagen intraoperatoria de medición de tensión parcial de oxígeno en bordes anastomóticos de vía biliar en donante y receptor con sensor de oximetría de punta fina.

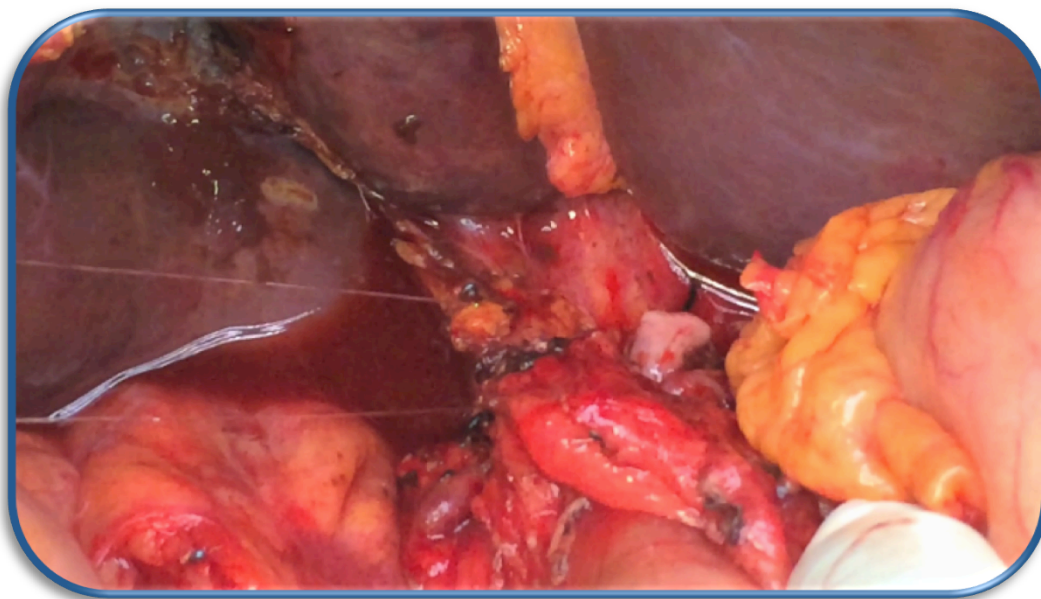


Fig. 14. Imagen intraoperatoria de medición de tensión parcial de oxígeno a 1 centímetro de ambos bordes anastomóticos de vía biliar en donante y receptor con sensor de oximetría de punta fina.

Para la correcta limpieza y mantenimiento de las sondas Oxylite (Oxford Optronix®) desarrollamos un protocolo de esterilización mediante óxido de etileno. El óxido de etileno, por su alta capacidad biocida, su relativa rapidez de actuación y su gran capacidad de difusión y penetrabilidad es el más usado para los materiales termosensibles utilizados en biomedicina, ya que ciertos productos usados en biomedicina son incompatibles con los procesos de esterilización habituales que usan altas temperaturas y por tanto dañarían sus componentes. A continuación se expone de forma resumida el proceso de esterilización propuesto, en concordancia con el utilizado previamente en humanos por el grupo de Siegfried y col. y, Holekamp y col..

- 1) Preacondicionamiento del material en el interior del esterilizador durante 16 h a 45 °C, previa realización de vacío y humidificación.

- 2) Inyección de óxido de etileno a una concentración de 750 mg/ly proceso de esterilización durante 4 h manteniendo 45 °C y una humedad relativa del 60%.
- 3) Descompresión y aireación con varios ciclos de vacío de la cámara para eliminar el óxido de etileno.
- 4) Aireación del material durante 4 días a 45 °C.
- 5) Empaquetado y comprobación de los indicadores químicos y biológicos de calidad.

#### h. Mediciones histológicas

Se realizó un análisis histopatológico de las muestras tisulares provenientes de arteria hepática y vía biliar principal de donante y receptor, biopsias de áreas contiguas al borde anastomótico que son descartadas para su uso y que fueron recogidas durante el transcurso de la cirugía, de cada uno de los trasplantes hepáticos incluidos en el estudio. Además, se realizó biopsia intraoperatoria hepática en el injerto tras la revascularización completa y del hígado explantado procedente del receptor para determinar el grado de lesión isquemia-reperusión del primero y la esteatosis presente en ambos.

Estas muestras histológicas procedentes de donantes y receptores fueron recibidas en el Servicio de Anatomía Patológica de nuestro centro y examinadas por un patólogo con dedicación específica en patología hepática y del trasplante hepático de forma ciega. Dichas muestras fueron fijadas en formol, procesadas e incluidas en bloques de parafina. En las muestras vasculares se realizaron cortes histológicos y tinciones convencionales de Hematoxilina-Eosina, así como técnicas histoquímicas de Tricrómico de Masson. En el caso de las muestras histológicas procedentes de vía biliar tanto de donante como de receptor, se realizaron tinciones de Hematoxilina-Eosina e inmunohistoquímicas: VEGF

(clona VG1, DAKO). Para las muestras procedentes de parénquima hepático, las técnicas de tinción más utilizadas fueron la Hematoxilina-eosina (valoración histológica basal), tinción de reticulina (para mostrar arquitectura detallada de los cordones hepáticos) y tricrómico de Masson (para estudio del grado de fibrosis).

A continuación se detallan los métodos y procesamiento para la tinción de las técnicas empleadas en el análisis histopatológico de las muestras de los pacientes incluidos en nuestro estudio.

- Hematoxilina-Eosina: probablemente la tinción más utilizada para el examen histopatológico (Fig 15), conjuga el uso de la Hematoxilina que actúa como un colorante básico que tiñe grupos aniónicos (reacción basófila) y la Eosina que por el contrario actúa como un colorante ácido que tiñe grupos catiónicos (reacción eosinófila).
  - 1) Desparafinado. Estufa durante 30 minutos a 60° C. Sumergimos la muestra en xilol durante 10-15 minutos.
  - 2) Hidratación. Alcohol absoluto, alcohol 96° y alcohol 70° durante 5 minutos respectivamente.
  - 3) Lavado en agua oxigenada destilada.
  - 4) Tinción con hematoxilina durante 5 minutos.
  - 5) Lavado en agua oxigenada 2 minutos.
  - 6) Tinción con Eosina alcohólica durante 1 minuto.
  - 7) Deshidratación. Alcohol de 70°, 96° y absoluto durante 5 minutos respectivamente. Xilol posterior.

8) Montaje.

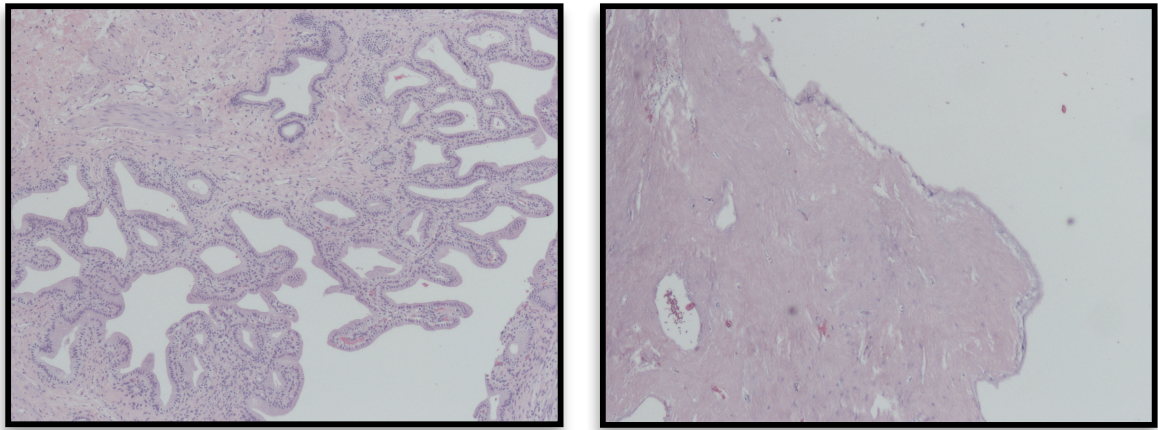


Fig. 15. Tinción de hematoxilina eosina en vía biliar en dos casos distintos.

- Tricrómico de Masson: Se trata de una tinción que emplea tres colorantes: hematoxilina, fucsina y verde luz. Es una tinción muy útil para poner de manifiesto las fibras de colágeno, y el conectivo en general, respecto a otros tipos celulares como músculo o epitelios. De esta forma, observaremos el tejido conjuntivo de color verde, el tejido muscular de color verde pardo, eritrocitos de rojizo, núcleos azul negro y citoplasma y fibras musculares rosa (Fig. 16).
- 1) Desparafinado. Estufa durante 30 minutos a 60° C. Sumergimos la muestra en xilol durante 10-15 minutos.
  - 2) Hidratación. Alcohol absoluto, alcohol 96° y alcohol 70° durante 5 minutos respectivamente.
  - 3) Lavado en agua oxigenada destilada.
  - 4) Tinción con hematoxilina de Weigert durante 5 minutos.
  - 5) Lavar con agua corriente 10 minutos.
  - 6) Fucsina de Ponceau 5 minutos.
  - 7) Ácido fosfomolibdico 5 minutos.



- 8) Ácido fosfomolibdico 5 minutos.
- 9) Verde luz 5-7 minutos.
- 10) Deshidratación. Alcohol de 70°, 96° y absoluto durante 5 minutos respectivamente. Xilol posterior.
- 11) Montaje.

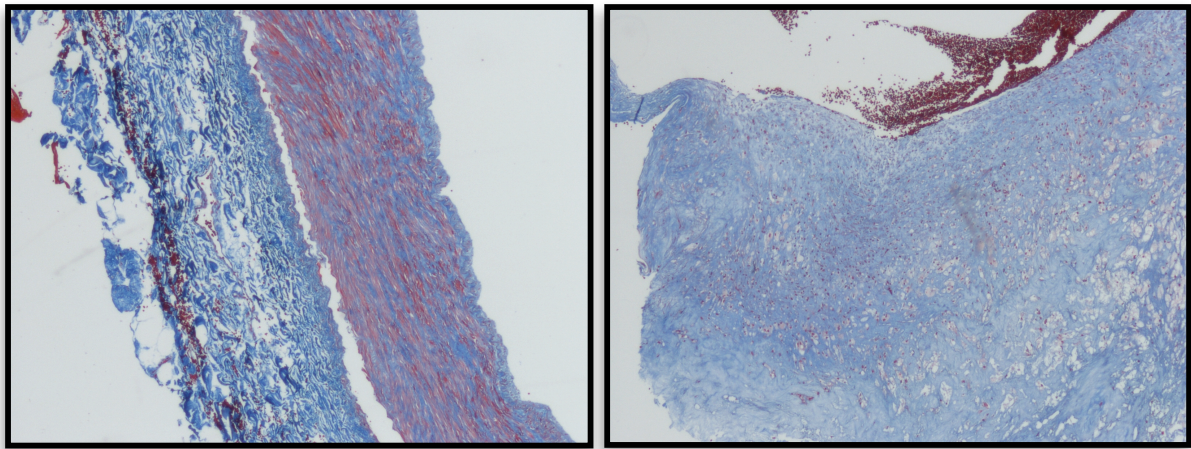


Fig. 16. Tinción tricrómico de Masson en vía biliar en dos casos distintos.

- Tinción de reticulina.

El uso de esta tinción permite la visualización de las fibras de reticulina en negro, los núcleos celulares en color grisáceo y por último las fibras de colágeno en tonos púrpura grisáceo (Fig.17).

- 1) Desparafinado. Estufa durante 30 min. a 60°. Sumergimos en xilol durante 10 o 15 min.
- 2) Hidratación. Alcohol absoluto-5min. Alcohol 96°-5min. Alcohol 70° durante 5 min.
- 3) Lavar en H<sub>2</sub>O destilada.

- 4) Permanganato potásico al 1% 1 min.
- 5) Lavar con agua destilada, 1-2 pases.
- 6) Metabisulfito potásico al 2% durante 1 min.
- 7) Lavar con agua destilada, 1-2 pases.
- 8) Alumbre férrico al 2% durante 2 min.
- 9) Lavar con agua destilada, 1-2 pases.
- 10) Reactivo de Wilder durante 2 min.
- 11) Lavar con agua destilada, 1-2 pases.
- 12) Formol al 10 % durante 5 min.
- 13) Lavar con agua destilada, 1-2 pases.
- 14) Cloruro de or al 0.2% durante 2 min.
- 15) Lavar con agua destilada, 1-2 pases.
- 16) Metabisulfito potásico al 2% durante 2 min.
- 17) Hiposulfato sódico al 2% durante 1 minuto.
- 18) Lavar con agua corriente durante 5 minutos.
- 19) Deshidratar. Alcohol de 70°, alcohol de 96° y Alcohol absoluto. Xilol.
- 20) Montaje.

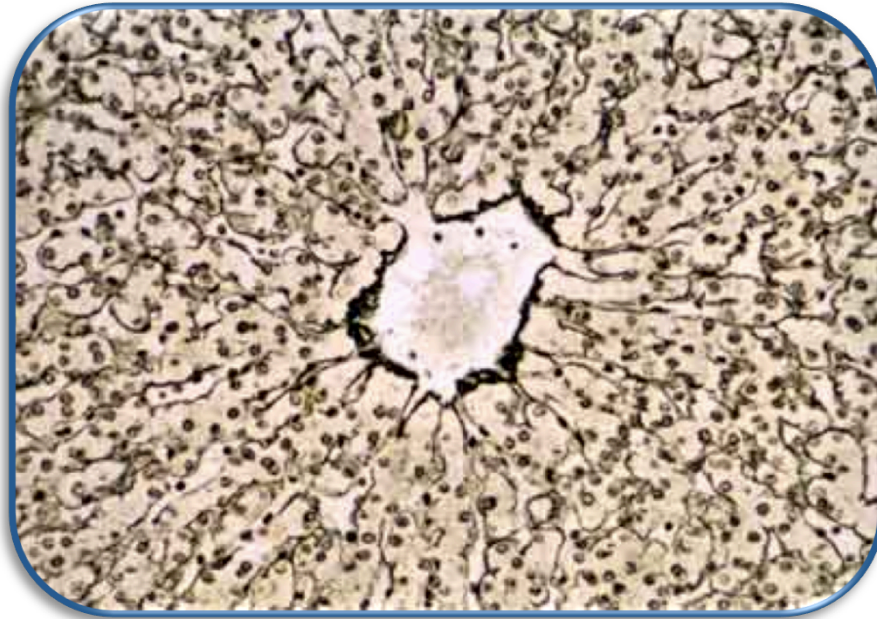


Fig. 17. Tinción de reticulina en vía biliar.

a. Escalas de lesión histológica

1. Escala de lesión de la vía biliar.

El grado lesional del epitelio y estroma biliar, y del plexo vascular peribiliar fue clasificado de acuerdo con la escala histológica sistemática desarrollada por Hansen et al.<sup>90</sup> Además, la lesión de las glándulas peribiliares fue tipificado según el sistema de gradación desarrollado por op den Dries et al<sup>91</sup> en el cual analiza de forma separada las glándulas subluminales de las más profundas localizadas a nivel del estroma y pared muscular de la vía biliar (Tabla 2).



TABLA 2. Escala de lesión histológica modificada de Hansen				
Componentes de la pared de la vía biliar	Grado de lesión			
	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Epitelio biliar	Ausencia	<50% de pérdida	>50% de pérdida	
Estroma mural	Ausencia	<25% necrosis	25-50% necrosis	>50% necrosis
Plexo vascular peribiliar	Ausencia	<50% alteración vascular	>50% alteración vascular	Grado 2 + arteriolonecrosis
Trombosis	Ausencia	Presente		
Sangrado Intramural	Ausencia	<50% de la pared	>50% de la pared	
Glándulas peribiliares periluminales	Ausencia	<50% de pérdida celular	>50% de pérdida celular	
Glándulas peribiliares profundas	Ausencia	<50% de pérdida celular	>50% de pérdida celular	
Inflamación	Ausencia	10-50 leucocitos por campo	>50 leucocitos por campo	

Tabla.2. Escala de lesión histológica de la vía biliar. Escala modificada de Hansen et al.

Journal Hepatology 2014 Jun;60(6):1172-9

## 2. Arteriosclerosis arterial.

En las muestras vasculares se realizaron cortes histológicos y tinciones convencionales de Hematoxilina-Eosina, así como técnicas histoquímicas de Tricrómico de Masson. Para clasificar los grados lesionales se usó la escala de Stary<sup>92</sup> modificada utilizando cuatro categorías: ausente, leve, moderada o severa.

## 3. Esteatosis hepática.

La esteatosis hepática fue clasificada según la escala de Adinolfi<sup>93</sup> discretamente modificada. La presencia de esteatosis macrovascular se clasificó en cuatro grados: grado 1 (esteatosis 0-10%), grado 2 (esteatosis 11-30%), grado 3 (esteatosis 31-60%) y grado 4 (esteatosis >60%). La esteatosis microvesicular no fue incluida en la cuantificación de la esteatosis durante el estudio histopatológico de las muestras.

## 4. Lesión de isquemia/reperfusión.

Los parámetros utilizados para clasificar el grado de lesión fueron la severidad, el tipo y la localización de la necrosis y de la inflamación. En concordancia con trabajos previos, la lesión de isquemia/reperfusión fue clasificada en cuatro grados crecientes (Tabla 3).<sup>94</sup>

TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE LA LESIÓN DE ISQUEMIA / REPERFUSIÓN				
	Grado I (Mínima)	Grado II (Leve)	Grado III (Moderada)	Grado IV (Severa)
Severidad de la inflamación (número de células inflamatorias por campo de gran aumento)	0-5	6-10	11-20	>20
Severidad de la necrosis, citoagregación y balonización hepatocitaria (%)	<10	10-40	41-70	>70

Tabla. 3. Clasificación de la lesión de isquemia reperfusión.

#### b. Análisis estadístico

Todos los datos de las variables fueron recogidos en una base de datos prospectiva.

El análisis descriptivo de variables cualitativas y cuantitativas fue expresado mediante números absolutos y %, y media, máximo, mínimo y desviación standard, respectivamente.

Las comparaciones basales inter-grupos de medias se realizaron mediante análisis de T-test (single-tailed o two-tailed de acuerdo a la asunción o no de igualdad de las varianzas, respectivamente) para datos independientes y apareados. La normalidad o no de muestras de subgrupos fue determinada mediante el test de Shapiro y Wilk. De forma general, se considerará el valor  $p < 0.05$  como el valor de significación estadística, salvo lo especificado anteriormente.

Todos los análisis serán realizados con el programa Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) release 11.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL).

### c. Informe del comité ético

La obtención del consentimiento informado para el trasplante hepático se obtiene de forma sistemática en las consultas pre-trasplante. De manera específica, fue entregado un consentimiento informado modificado a aquellos pacientes candidados a ser incluidos en el estudio en el que se explican de forma clara y explícita las modificaciones en el procedimiento habitual del Trasplante Hepático, así como las actuaciones añadidas y la finalidad del estudio, de forma que cada uno de los pacientes autorizaron por escrito la recogida, uso, estudio y publicación de los datos derivados de dichas actuaciones.

Dicha modificación al consentimiento informado, así como una memoria del presente proyecto, fueron presentados a evaluación por el Comité Ético del Hospital Universitario Reina Sofía de Córdoba. Desde el punto de vista ético, la intervención no supone riesgo alguno para el receptor del injerto, pues como hemos mencionado en las disposiciones técnicas, el procedimiento se basa exclusivamente en tomar biopsias vasculares y de la vía biliar principal (que usualmente son de zonas que se descartan para su uso) y proceder a mediciones con un sensor inocuo en diferentes localizaciones de la vía biliar y arteria hepática en el injerto y receptor.



## 5. RESULTADOS

### a. Análisis descriptivo general

La tabla 4 muestra el estudio descriptivo de las variables analizadas de donantes, receptores, además de variables de tipo técnico y postoperatorias. Los resultados de este estudio basal de las variables cuantitativas se expresan con la media, desviación típica y rango. Para las variables cualitativas se muestran los resultados en número absoluto y porcentaje.

TABLA 4. RESUMEN DEL ESTUDIO DESCRIPTIVO BASAL DE LA MUESTRA	
CARACTERÍSTICAS DE LOS DONANTES	
Edad	11/23 V (47,8%); 12/23 F (52,2%)
Sexo	M= 58,39; D= 14,3; R=18-30
IMC	M= 28,46; D= 4,62; R= 22-37
Diabetes Mellitus (kg/m2)	Sí 5/23 (21,7%); No 18/23 (78,3%)
HTA	Sí 11/23 (47,8%); No 12/23 (52,2%)
Cardiopatía isquémica	Sí 0/23; No 23/23
Enfermedad cardiovascular	Sí 2/23 (8,7%); No 21/23 (91,3%)
Dislipemia	Sí 3/23 (13%); 20/23 (87%)
Tabaquismo	Sí 12/23 (52,2%); No 11/23 (47,8%)

Alcoholismo	Sí 0/23; No 23/23
Días en UCI	
Uso de aminas vasoactivas	Sí 19/23 (82,6%); No 4/23 (17,4%)
Niveles de Sodio (mg/dl)	M= 144; D= 7,5; R=132-160
Bilirrubina total (mg/dl)	M= 0,9; D=0,6; R= 0,2-2,4
ASL	M= 35; D= 27,4; R= 15-114
ALT	M= 36; D= 33,1; R= 11-140
CARACTERÍSTICAS DE LOS RECEPTORES	
Edad	M=53; D=6,2; R= 42-66
Sexo	21/23 V (91,3%); 2/23 F (8,7%)
IMC (kg/m2)	M= 25,95; D= 3,8; R= 20,7-32,2
Diabetes Mellitus	Sí 6/23 (26,1%); No 17/23 (73,9%)
HTA	Sí 6/23 (26,1%); No 17/23 (73,9%)
Cardiopatías	Sí 0/23; No 23/23
Enfermedad cardiovascular	Sí 0/23; No 23/23
Dislipemia	Sí 2/22 (8,7%); No 21/23 (91,3%)
Tabaquismo	Sí 15/23 (65,2%); 8/23 (34,8%)

Alcoholismo	Sí 17/23 (73,9%); No 6/23 (26,1%)
MELD pre-tx	M= 17,9; D= 5,7; R= 7-28
ASL	M= 71,6; D= 62,5; R= 13-299
ALT	M= 46,2; D=43,5; R= 9-195
Niveles de Sodio (mg/dl)	M= 133,5; D= 5,8; R= 122-142
Bilirrubina total (mg/dl)	M= 6,8; D= 9,3; R= 0,3-37
Creatinina (mg/dl)	M= 1,1; D= 0,6; R= 0,4-2,8
Actividad de protrombina	M= 54,7; D= 19,5; R= 28-100
Serología VHC	Sí 10/23 (43,5%); No 13/23 (56,5%)
Serología VHB	Sí 0/23; No 23/23
Carcinoma hepatocelular	Sí 8/23 (34,8%); No 15/23 (65,2%)
CARACTERÍSTICAS DEL INJERTO Y TÉCNICAS	
Tiempo de isquemia fría (minutos)	M= 301,1; D= 109,2; R= 115-570
Transfusión concentrado de hematíes	M= 4,1; D= 3,5; R= 0-12
Transfusión de plasma	M= 1,7; D= 1,8; R= 0-6
Transfusión de plaquetas	M= 0,4; D= 0,5; R= 0-1
Macroflujometría doppler arterial	M= 118,7; D= 57,9; R= 29-260



Ligadura Gastroduodenal	Sí 19/23 (82,6%); No 4/23 (17,4%)
Anomalía arterial injerto	Sí 4/23 (17,4%); No 19/23 (82,6%)
Gasometría arterial tras montaje biliar:	
pO <sub>2</sub>	M= 209,8; D= 69,4; R= 98-330
Saturación de O <sub>2</sub>	M= 97; D= 0,7; R= 97-100
Láctico	M= 4,2; D= 1,8; R= 1,3-8,3
CARACTERÍSTICAS POST-TRASPLANTE	
Estancia en UCI	M= 7,6; D= 5,9; R= 4-25
Estancia hospitalaria	M= 26,2; D=18,4; R= 9-79
Uso de aminas vasoactivas	Sí 14/23 (60,9%); No 9/23 (39,1%)
Rechazo agudo	Sí 5/23 (21,7%); No 18/23 (78,3%)
Complicaciones quirúrgicas	Sí 5/23 (21,7%); No 18/23 (78,3%)
Complicaciones biliares (15 días)	Sí 4/23 (17,4%); No 19/23 (82,6%)
Reintervención	Sí 3/23 (13%); No 20/23 (87%)
ASL pico máximo post-tx	M= 796,1; D= 482,3; (161-1444)
ALT pico máximo post-tx	M= 599,0; D= 384,6; (65-1216)

Tabla. 4. Características descriptivas basales de nuestra población a estudio (N=23) en donante y receptor.

M: Media; D: Desviación típica; R: Rango.

b. Oxigenación de la vía biliar.- Estudio descriptivo

Las mediciones de tensión de oxígeno tisular fueron realizadas en cada paciente a nivel del borde terminal de la anastomosis en la vía biliar del injerto y del receptor, y a un centímetro distal de las anteriores mediciones en ambas vías biliares. La tabla 5 muestra el estudio descriptivos de la presión parcial de oxígeno tisular en las cuatro localizaciones en términos de media, desviación típica y rango. En modo de histograma, se exponen estos mismos resultados en las figuras 18, 19, 20 y 21.

<b>Tabla. 5. P OXÍGENO TISULAR (mmHg)</b>	
VBD 1CM ANASTOMOSIS	M= 121,52; D= 25,48; R= 55 – 174
VBD ANASTOMOSIS	M=103,82; D= 28,35; R= 31 -157
VBR ANASTOMOSIS	M= 117,87; D= 34,43; R= 62 – 185
VBR 1CM ANASTOMOSIS	M= 137,30; D= 33,73; R= 81 – 198

Tabla. 5. Valores de microtensión tisular de oxígeno a nivel de las cuatro localizaciones de medición en la vía biliar.

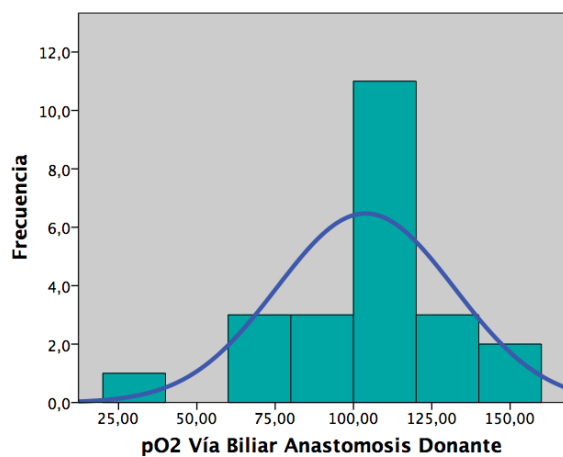


Fig. 18. Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a nivel de la anastomosis en vía biliar del donante.

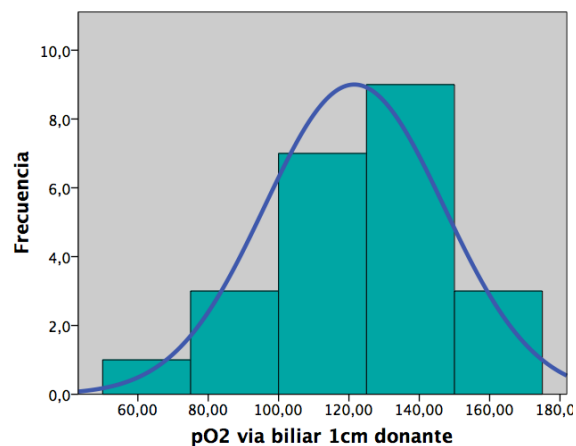


Fig. 19. Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a 1cm distal de la anastomosis en vía biliar del donante.

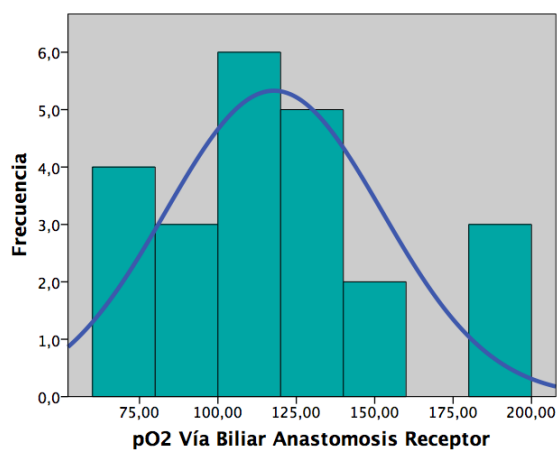


Fig. 20. Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a nivel de la anastomosis en vía biliar del receptor.

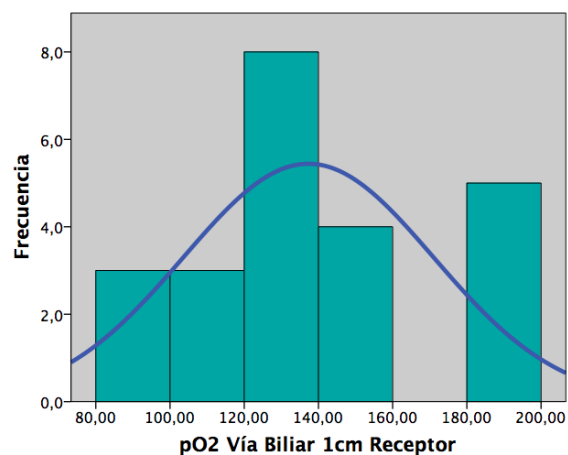


Fig. 21. Histograma con valores de microtensión tisular de oxígeno a 1cm distal de la anastomosis en vía biliar del receptor.

### c. Oxigenación de la vía biliar.- Estudio comparativo

#### i. Distancia a la anastomosis

Para valorar las diferencias en la tensión de oxígeno tisular en las diferentes localizaciones de medición de la vía biliar tanto en donante como en receptor, se realizó un análisis

comparativo con T de student para datos apareados tras comprobar la normalidad de las variables usando el test de Kolmogorov.

En primer lugar, comparamos los valores de presión parcial de oxígeno obtenidos en el borde terminal anastomótico respecto de la medición realizada 1cm distal en la vía biliar del injerto (Tabla 6). Se objetivó que el valor medio de presión parcial de oxígeno es mayor en el área de medición distal al borde terminal anastomótico en el donante, obteniéndose diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ). Igualmente, se realizó la comparación de las mediciones de tensión de oxígeno tisular a nivel del borde anastomótico y a 1cm de ésta en la vía biliar del receptor. De la misma manera, los valores de oxígeno tisular fueron mayores en la localización de medida 1cm distal al extremo anastomótico del receptor ( $p < 0,05$ ).

	<i>Diferencia Medias</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>95% Intervalo de Confianza</i>
<b>VÍA BILIAR DONANTE ANASTOMOSIS VS 1CM</b>	- 17,69	- 11,584	< 0,001	(-20,86) – (-14,53)
<b>VÍA BILIAR RECEPTOR ANASTOMOSIS VS 1CM</b>	- 19,43	- 8,105	< 0,001	(-24,41) – (-14,46)

Tabla. 6. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en ambos extremos tanto en donante como en receptor a nivel de la anastomosis biliar y a 1 cm distal en nuestra muestra a estudio (N=23).

Al enfocar el análisis en los resultados obtenidos en la vía biliar del injerto, un total de 12 anastomosis biliares realizadas por encima del conducto cístico del donante y por tanto con sección del mismo. Por el contrario, en 11 pacientes la anastomosis biliar se realizó por debajo del conducto cístico. Al realizar un test comparativo T de student para datos apareados, observamos que la microtensión tisular de oxígeno es más elevada en áreas distales al borde terminal de la vía biliar del injerto tanto en las anastomosis realizadas por encima (tabla 7) como por debajo (tabla 8) del conducto cístico.

<b>P OXÍGENO TISULAR (mmHg)</b>		<b><i>Diferencia de Medias</i></b>	<b><i>t</i></b>	<b><i>p</i></b>	<b><i>95% Intervalo de Confianza</i></b>
<b>ANASTOMOSIS</b>	117,8 (93 - 157)	-17,75	-10,118	<0,001	(-21,61) – (-13,89)
<b>1 CM PROXIMAL</b>	135,6 (111 – 174)				

Tabla 7. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en ambos extremos tanto en donante como en receptor a nivel de

la anastomosis biliar y a 1 cm distal en los pacientes con anastomosis biliar realizada por encima de la inserción del conducto cístico.

<b>P OXÍGENO TISULAR (mmHg)</b>		<i>Diferencia de Medias</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>95% Intervalo de Confianza</i>
<b>ANASTOMOSIS</b>	88,54 (31-124)	-17,64	-6,646	< 0,001	(-23,55) – (- 11,72)
<b>1 CM PROXIMAL</b>	106,2 (55 – 133)				

Tabla 8. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en ambos extremos tanto en donante como en receptor a nivel de la anastomosis biliar y a 1 cm distal en los pacientes con anastomosis biliar realizada por debajo de la inserción del conducto cístico.

En el caso del análisis de la muestra completa de donantes (Tabla 9) y teniendo en cuenta el nivel de la anastomosis biliar (por encima o por debajo del conducto cístico del injerto), observamos al realizar un test T de student para datos independientes que las anastomosis realizadas en el borde de sección de la vía biliar del donante por encima de la inserción del conducto cístico se asocian a una mayor presión de oxígeno tisular ( $p < 0,05$ ).

	<i>Diferencia Medias</i>	<i>t</i>	<i>p</i>	<i>95% Intervalo de Confianza</i>
<b>VÍA BILIAR DONANTE ANASTOMOSIS</b>	29,288	2,846	0,010	7,884 – 50,691

Tabla 9. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno en a nivel del borde anastomótico de la vía biliar en la muestra completa de donante en función de la localización de la anastomosis biliar, con o sin sección del conducto cístico.

## ii. Donantes con criterios expandidos

Definimos como donantes con criterios expandidos todos aquellos donantes que cumpliesen al menos uno de los siguientes criterios: donantes con más de 65 años, VHC positivo con 15% macroesteatosis, más del 25% de esteatosis macrovesicular en la biopsia hepática, evidencia de daño isquémico significativo (AST o ALT en sangre >1000IU/L en el momento de la oferta del órgano) o tiempo de isquemia fría mayor de 8 horas.

En nuestra muestra, ninguno de los donantes fue positivo para VHC y ninguno presentó en las pruebas de laboratorio en el momento de la oferta de la donación niveles de AST o ALT mayores de 1000IU/L. Utilizando el test T de student para muestras independientes comparamos los valores medios de microtensión de oxígeno tisular a nivel de la vía biliar del injerto en función del resto de variables consideradas criterios expandidos (Tabla 10).

Los injertos procedentes de donantes mayores de 65 años presentaron una presión parcial de oxígeno media menor (87,62 mmHg) que en donantes más jóvenes (112,47) sin alcanzar significación estadística ( $p>0,05$ ). Los injertos hepáticos con resultados en la

biopsia de esteatosis macrovesicular >25% fueron un total de 6, y estos donantes presentaron un valor medio de tensión de oxígeno tisular discretamente inferior (105,50 mmHg) al resto sin encontrar tampoco diferencias estadísticamente significativas ( $p>0,05$ ). Por el contrario, los dos únicos injertos hepático con tiempos de isquemia fría superiores a 8 horas presentaron un valor de microtensión de oxígeno tisular mayor que el resto de injertos con tiempos de isquemia fría menores de 8 horas, aunque sin alcanzar significación estadística ( $p>0,05$ ).

P O2 TISULAR  (MEDIA, mmHG)		Diferencia de medias	t	Intervalo de  Confianza 95%		p
				Inferior	Superior	
EDAD DONANTE						
<65 años  (N=15)	112,47	24,84	1,701	-8,714	58,397	0,127
> o = 65  años  (N=8)	87,62					
ESTEATOSIS MACROVESICULAR >25% INJERTO						
SÍ (N=6)	105,50	3,286	0,261	-29,749	23,185	29,757
NO (N=14)	108,78					
TIEMPO ISQUÉMICO > 8 HORAS						
<8 horas  (N=21)	102,57	-14,428	-0,679	-58,611	29,754	0,504
>8 horas  (N=2)	117,00					



Tabla 10. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de variables consideradas criterios expandidos.

Entre las variables estudiadas en los donantes existen otras que no serían consideradas criterios expandidos pero podrían ser catalogadas como factores de riesgo para presentar vías biliares en el injerto con peor calidad microvascular o con menor microtensión tisular de oxígeno. Los factores de riesgo sería la Diabetes Mellitus, HTA, dislipemia, tabaquismo y el índice de masa corporal  $>30 \text{ kg/m}^2$ . Realizamos un análisis con cada una de estas variables para comparar el nivel de presión parcial de oxígeno tisular en la vía biliar del injerto (Tabla 11), y observamos una menor microtensión tisular de oxígeno estadísticamente significativa en aquellos pacientes diagnosticados de Diabetes Mellitus, HTA o un índice de masa corporal  $>30 \text{ kg/m}^2$ . Aquellos pacientes con dislipemia o con tabaquismo activo también presentaban una presión parcial de oxígeno disminuida en la vía biliar del injerto pero sin alcanzar significación estadística ( $p>0,05$ ).

VÍA BILIAR DONANTE						
P O2 TISULAR  (Media, mm Hg)		Diferencia  de medias	t	Intervalo de  Confianza 95%		p
				Inferior	Superior	
DIABETES MELLITUS DONANTE						
SÍ	80,60	-29,678	-2,254	-57,056	-2,299	0,035
NO	110,278					

HTA DONANTE						
<i>SÍ</i>	91,72	-23,189	-2,107	-46,081	-0,298	0,047
<i>NO</i>	114,92					
DISLIPEMIA DONANTE						
<i>SÍ</i>	90,67	-15,133	-0,857	-51,866	21,599	0,401
<i>NO</i>	105,80					
TABAQUISMO						
<i>SÍ</i>	101,82	-2,182	-0,174	-28,294	23,931	0,863
<i>NO</i>	104,00					
IMC > 30 kg/m2						
<i>SÍ</i>	107,50	21,500	2,065	-0,149	43,149	0,049
<i>NO</i>	129,00					

Tabla 11. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de variables consideradas de riesgo para presencia de microvasculopatía arterial.

### iii. Receptores de alto riesgo (TACE / BMI / Diabetes)

Del mismo modo que en los donantes, entre las variables estudiadas en los receptores, encontramos variables que podrían considerarse como factores de riesgo para presentar vías biliares en el receptor con peor calidad microvascular o con menor microtensión tisular de oxígeno. Estas variables serían los factores de riesgo cardiovascular (Diabetes Mellitus, HTA, dislipemia, tabaquismo, índice de masa corporal >30), la ligadura de la arteria gastroduodenal durante el trasplante y haber recibido tratamiento previo al

trasplante por un carcinoma hepatocelular consistente en quimioembolización arterial (TACE).

Realizamos un análisis comparativo usando el test T de Student para datos independientes (Tabla 12), y aquellos pacientes con Diabetes Mellitus, dislipemia, HTA o dislipemia presentaron una presión parcial de oxígeno disminuida en la vía biliar del receptor respecto del resto de la muestra pero sin alcanzar significación estadística ( $p>0,05$ ). Por el contrario, aquellos pacientes con índice de masa corporal  $>30$  o tabaquismo activo, aunque no presentaron diferencias estadísticamente significativas, mostraron un valor medio de microtensión de oxígeno tisular mayor que el resto de pacientes.

Por otro lado, observamos una disminuida microtensión tisular de oxígeno en aquellos pacientes con diagnóstico de carcinoma hepatocelular previo tratados con TACE y aquellos en los que la arteria gastroduodenal fue interrumpido el flujo, aunque sin alcanzar significación estadística ( $p>0,05$ ).

VÍA BILIAR RECEPTOR						
P O2 TISULAR  (Media, mm Hg)		Diferencia  de medias	t	Intervalo de  Confianza 95%		p
				Inferior	Superior	
DIABETES MELLITUS RECEPTOR						
SÍ	115,67	-2,983	-0,178	-37,758	31,797	0,206
NO	118,65					
HTA RECEPTOR						
SÍ	108,83	-12,225	-0,740	-46,584	22,133	0,468
NO	121,06					
DISLIPEMIA RECEPTOR						

<i>SÍ</i>	102,50	-16,833	-0,652	-70,531	36,864	0,522
<i>NO</i>	119,33					
TABAQUISMO RECEPTOR						
<i>SÍ</i>	123,27	15,517	1,031	-15,789	46,822	0,314
<i>NO</i>	107,75					
IMC > 30 kg/m2 RECEPTOR						
<i>SÍ</i>	110,40	9,544	0,539	-27,253	46,342	0,595
<i>NO</i>	119,94					
LIGADURA ARTERIA GASTRODUODENAL						
<i>SÍ</i>	114,42	-19,828	-0,656	-111,418	71,761	0,555
<i>NO</i>	134,25					
QUIMIOEMBOLIZACIÓN ARTERIAL POR CARCINOMA						
HEPATOCELULAR						
<i>SÍ</i>	114,50	-4,079	-0,211	-44,357	36,199	0,853
<i>NO</i>	118,579					

Tabla 12. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del receptor en función de variables consideradas de riesgo para presencia de microvasculopatía arterial.

d. Oxigenación de la vía biliar.- Correlación histológica

A continuación se expone el estudio descriptivo de los resultados histopatológicos de los donantes (Tabla 13) y receptores (Tabla 14) recogidas de la muestra seleccionada para nuestro estudio. En la tabla 15 y 16 se muestran los resultados hitopatológicos de la arteria

hepática y biopsia hepática respectivamente tanto de donante como de receptor. Todos los resultados se expresan en número absoluto y su porcentaje.

<b>VÍA BILIAR DONANTE</b>		G2	0/23
<b><i>Epitelio Vía biliar</i></b>		<b><i>Sangrado intraluminal</i></b>	
G0	1/23 (4,3%)	G0	2/23 (13%)
G1	4/23 (17,4%)	G1	14/23 (60,9%)
G2	18/23 (78,1%)	G2	6/23 (26,1%)
<b><i>Estroma Vía biliar</i></b>		<b><i>Glándulas peribiliares</i></b>	
G0	2/23 (8,7%)	<b><i>periluminales</i></b>	
G1	9/23 (39,1%)	G1	1/23 (4,3%)
G2	8/23 (34,8%)	G2	5/23 (21,7%)
G3	4/23 (17,4%)	G3	17/23 (73,9%)
<b><i>Plexo vascular peribiliar</i></b>		<b><i>Glándulas peribiliares profundas</i></b>	
G0	0/23 (0%)	G0	4/23 (17,4%)
G1	8/23 (34,8%)	G1	11/23 (47,8%)
G2	11/23 (47,8%)	G2	8/23 (34,8%)
G3	4/23 (17,4%)	<b><i>Inflamación Vía Biliar</i></b>	
G3	0/23	G0	0/23
<b><i>Trombosis vía biliar</i></b>		G1	15/23 (65,2%)
G0	23/23	G2	8/23 (34,8%)
G1	0/23		

Tabla 13. Hallazgos histopatológicos en la vía biliar del donante. Score de Hansen.<sup>90</sup>

<b>VÍA BILIAR RECEPTOR</b>		G2	0/23
<b><i>Epitelio Vía biliar</i></b>		<b><i>Sangrado intraluminal</i></b>	
G0	0/23	G0	5/23 (21,7%)
G1	6/23 (26,1%)	G1	11/23 (47,8%)
G2	17/23 (73,9%)	G2	7/23 (30,4%)
<b><i>Estroma Vía biliar</i></b>		<b><i>Glándulas peribiliares</i></b>	
G0	1/23 (4,3%)	<b><i>periluminales</i></b>	
G1	12/23 (52,2%)	G0	1/23 (4,3%)
G2	10/23 (43,5%)	G1	9/23 (39,1%)
G3	0/23	G2	13/23 (56,5%)
<b><i>Plexo vascular peribiliar</i></b>		<b><i>Glándulas peribiliares profundas</i></b>	
G0	4/23 (17,4%)	G0	1/23 (4,3%)
G1	15/23 (65,2%)	G1	16/23 (69,6%)
G2	3/23 (13%)	G2	6/23 (26,1%)
G3	1/23 (4,3%)	<b><i>Inflamación Vía Biliar</i></b>	
<b><i>Trombosis vía biliar</i></b>		G0	0/23
G0	22/23 (95,7%)	G1	12/23 (52,2%)
G1	1/23 (4,3%)	G2	11/23 (47,8%)

Tabla 14. Resultados descriptivos de hallazgos histopatológicos en la vía biliar del donante. Score de Hansen.<sup>90</sup>

<b>ARTERIA HEPÁTICA DONANTE</b>	
Leve	14/23 (60,9%)
<b><i>Arteriosclerosis</i></b>	
Moderada	5/23 (21,7%)
Ausente	3/23 (13%)
Severa	1/23 (4,3%)

<b>ARTERIA HEPÁTICA RECEPTOR</b>	
<i>Arteriosclerosis</i>	
Ausente	1/23 (4,3%)
Leve	11/23 (47,8%)
Moderada	11/23 (47,8%)
Severa	1/23 (4,3%)

Tabla 15. Resultados descriptivos de hallazgos histopatológicos en la arteria hepática en donante y receptor.

<b>ESTEATOSIS HEPÁTICA INJERTO</b>	
0-10%	6/23 (30%)
10-30%	8/23 (40%)
30-60%	6/23 (30%)
> 60%	1/23 (4,3%)
<b>LESIÓN POST-REVASCULARIZACIÓN INJERTO</b>	
Ausente	0/23
GI	8/23 (47,1%)
GII	9/23 (52,9%)
GIII	0/23

Tabla 16. Resultados descriptivos de hallazgos histopatológicos de esteatosis hepática en el injerto y de lesión post-revascularización en injerto.

Se realizó un análisis correlacionando todos los datos histopatológicos obtenidos de las biopsias de arteria hepática, vía biliar y parénquima hepático tanto en donantes como en receptores, con los datos de micro-oxigenación tisular medidos en la vía biliar.

En el caso de la vía biliar del injerto (tabla 17), objetivamos que lesiones grado II-III en el estroma mural, grado II en el plexo vascular peribiliar, grado II de sangrado intraluminal y la presencia de arteriosclerosis moderada o severa en la arteria hepática del donante, se asoció a una presión de oxígeno tisular disminuido en la vía biliar del injerto alcanzando significación estadística ( $p < 0,05$ ). Las figuras 22 a 31 muestran la



representación gráfica de las variables analizadas en forma de diagrama de cajas y bigotes.

VÍA BILIAR DONANTE					
P O2 TISULAR  (Media, mm Hg)	Diferencia  de medias	t	Intervalo de  Confianza 95%		p
			Inferior	Superior	
EPITELIO VÍA BILIAR					
G0 - GI	-8,024	-0,375	-52,540	36,492	0,712
GII					
ESTROMA VÍA BILIAR					
G0 - GI	37,447	4,187	18,847	56,047	<0,001
GII - GIII					
PLEXO VASCULAR PERIBILIAR					
G0	31,700	2,974	9,535	53,865	0,007
GI - GII - GIII					
SANGRADO INTRALUMINAL					
G0 - GI	28,176	2,284	2,526	53,827	0,033
GII					
GLÁNDULAS PERILUMINALES					
G0 - GI	-6,304	-0,460	-34,822	22,214	0,650
GII					
GLÁNDULAS PROFUNDAS					
G0 - GI	-3,333	-0,263	-29,714	23,047	0,795

<i>GII</i>					
INFLAMACIÓN					
<i>G0 – GI</i>	-0,075	-0,006	-26,499	26,349	0,995
<i>GII</i>					
ARTERIOSCLEROSIS ARTERIA HEPÁTICA INJERTO					
<i>Ausente - Leve</i>	29,529	2,424	4,194	54,865	0,024
<i>Moderada - Severa</i>					
ESTEATOSIS HEPÁTICA					
<i>0 – 30%</i>	3,286	0,261	-23,185	29,757	0,797
<i>&gt;30%</i>					
LESIÓN POST-REVASCULARIZACIÓN					
<i>G0 - GI</i>	15,653	1,282	-10,363	41,668	0,219
<i>GII - GIII</i>					

Tabla 17. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de los hallazgos histopatológicos de la biopsia de la vía biliar del donante

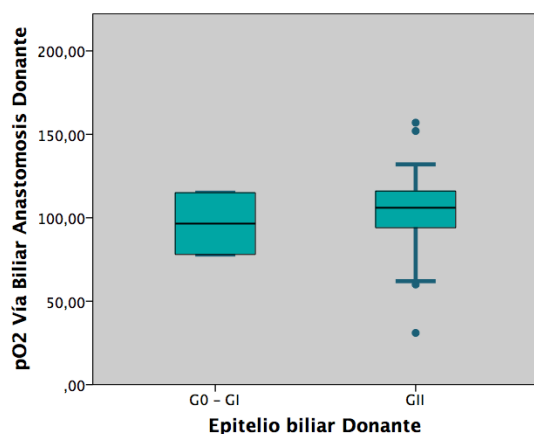


Fig. 22. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en epitelio biliar.

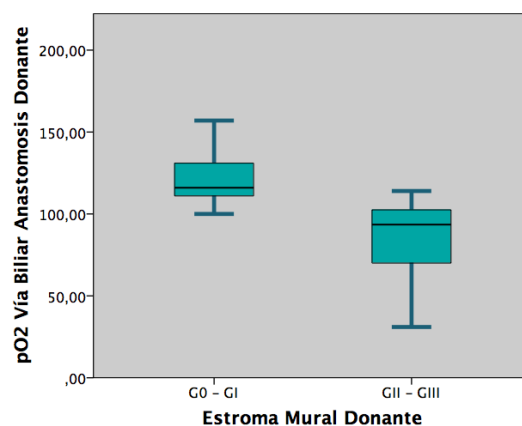


Fig. 23. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en estroma mu

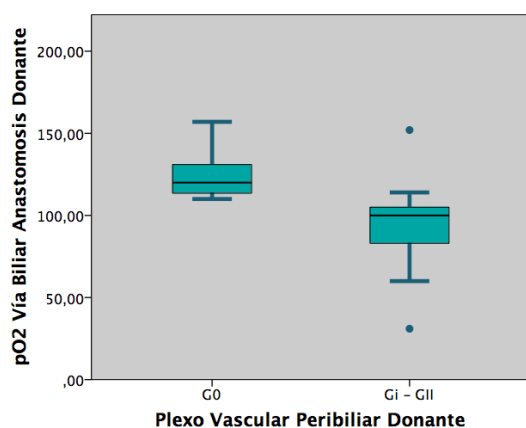


Fig. 24. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en el plexo vascular peribiliar.

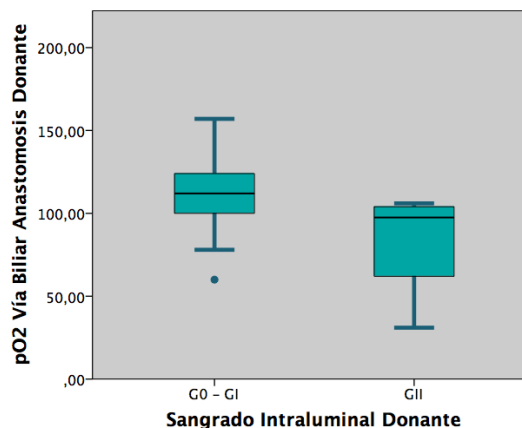


Fig. 25. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de sangrado intraluminal.

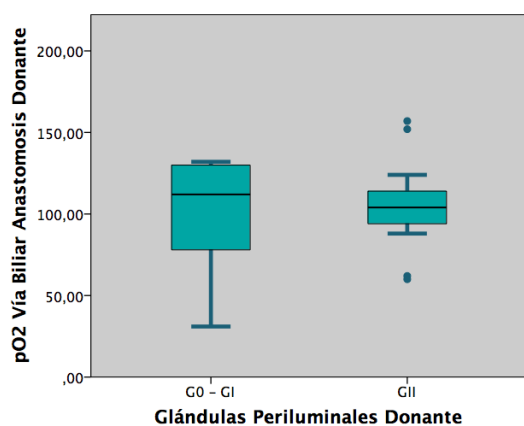


Fig. 26. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en glándulas periluminales.

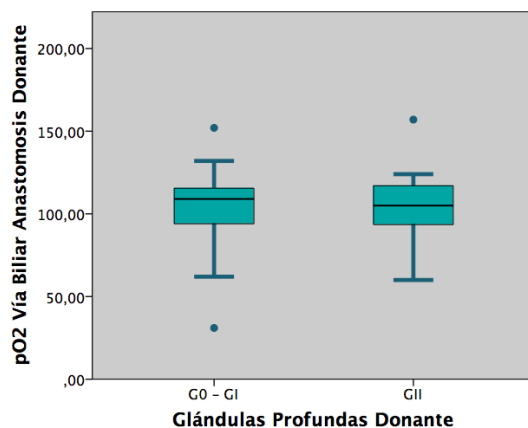


Fig. 27. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión en glándulas profundas.

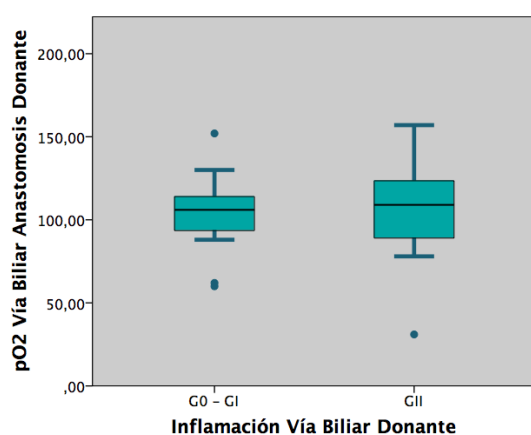


Fig. 28. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de inflamación de la vía biliar.

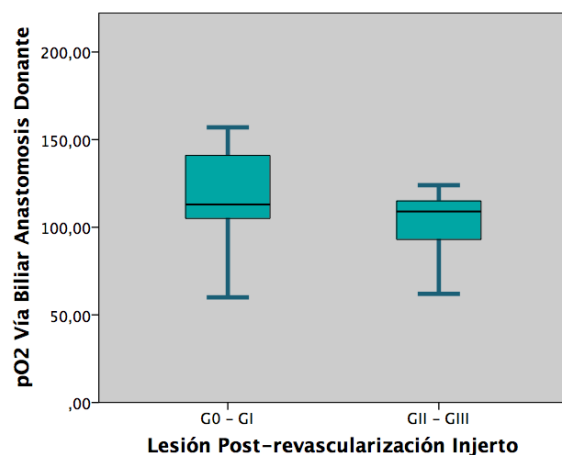


Fig. 29. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de lesión post-revascularización.

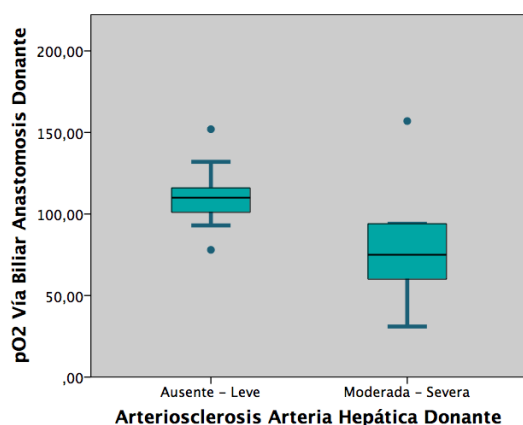


Fig. 30. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de arteriosclerosis de la arteria hepática.

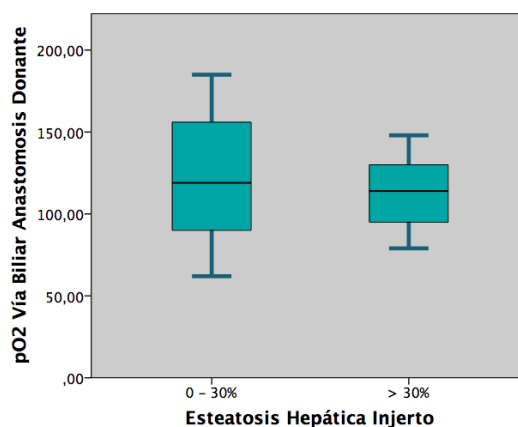


Fig. 31. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con el grado de esteatosis hepática del injerto.

Al correlacionar los hallazgos histopatológicos recogidos del estudio de la vía biliar, arteria hepática y parénquima hepático del receptor con los datos de presión parcial de oxígeno tisular en la vía biliar del receptor (Tabla 18), observamos que las lesiones grado II en el epitelio biliar, grado II en el plexo vascular peribiliar y grado I-II-III de inflamación, se asoció a una menor microoxigenación tisular estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Las figuras 32 a 42 muestran la representación gráfica de las variables analizadas en forma de diagrama de cajas y bigotes.

VÍA BILIAR RECEPTOR					
P O2 TISULAR  (Media, mm Hg)	Diferencia  de medias	t	Intervalo de  Confianza 95%		p
			Inferior	Superior	
EPITELIO VÍA BILIAR					
G0 - GI	48,294	3,846	22,183	74,405	0,001

<i>GII</i>					
ESTROMA VÍA BILIAR					
<i>G0 - GI</i>	15,869	1,101	-14107	45,845	0,283
<i>GII - GIII</i>					
PLEXO VASCULAR PERIBILIAR					
<i>G0</i>	24,960	1,341	-13736	63,657	0,194
<i>GI - GII - GIII</i>					
SANGRADO INTRALUMINAL					
<i>G0 - GI</i>	15,659	0,919	-18,172	46,958	0,368
<i>GII</i>					
GLÁNDULAS PERILUMINALES					
<i>G0 - GI</i>	14,709	-0,574	-39,028	22,152	0,572
<i>GII</i>					
GLÁNDULAS PROFUNDAS					
<i>G0 - GI</i>	8,167	0,491	-26,439	42,773	0,629
<i>GII</i>					
INFLAMACIÓN					
<i>G0 – GI</i>	28,636	2,258	1,951	55,322	0,037
<i>GII</i>					
ARTERIOSCLEROSIS ARTERIA HEPÁTICA					
<i>Ausente - Leve</i>	6,197	0,423	-24,268	36,662	0,677
<i>Moderada - Severa</i>					

Tabla 18. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del receptor en función de los hallazgos histopatológicos de la biopsia de la vía biliar del receptor.

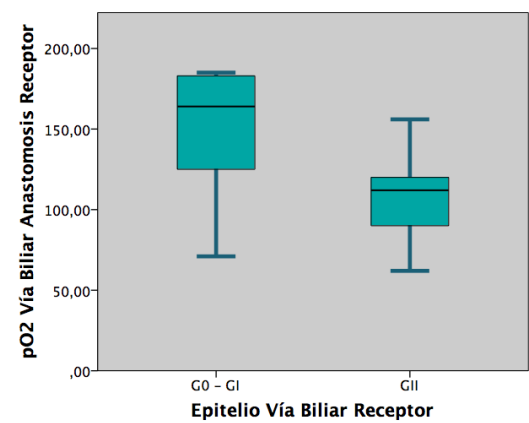


Fig. 32. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión del eptiello de la vía biliar.

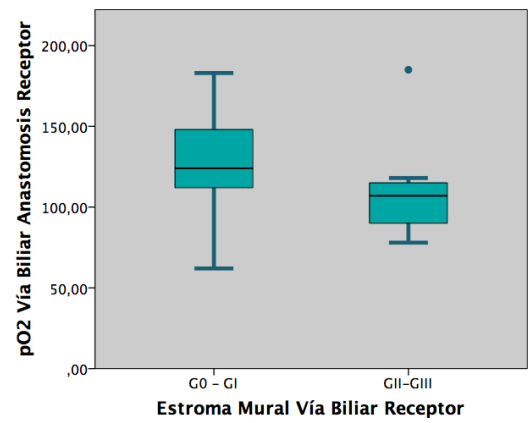


Fig. 33. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión del estroma mural.

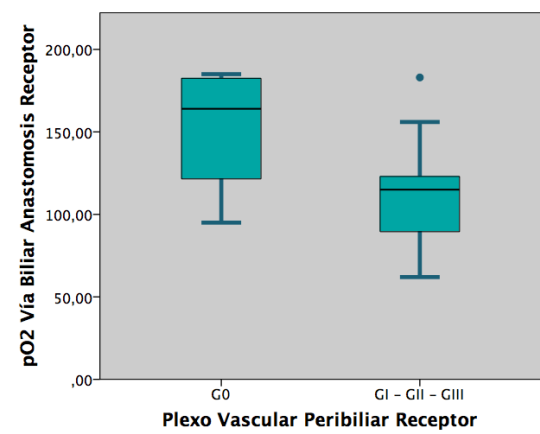


Fig. 34. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión del plexo vascular peribiliar.

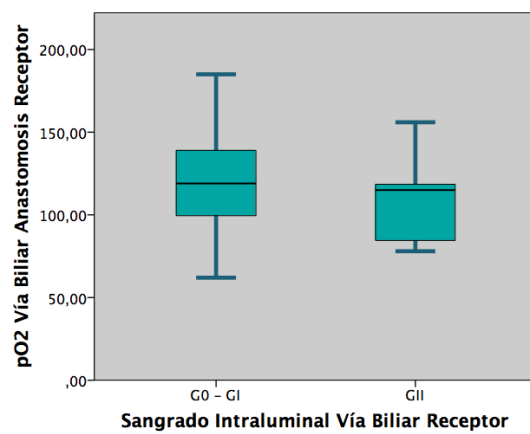


Fig. 35. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de sangrado intraluminal de la vía biliar.

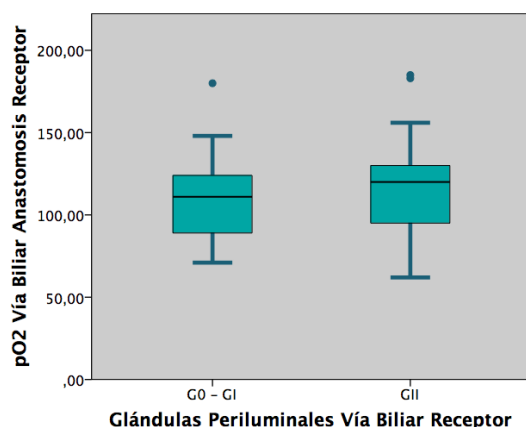


Fig. 36. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión de las glándulas periluminales de la vía biliar.

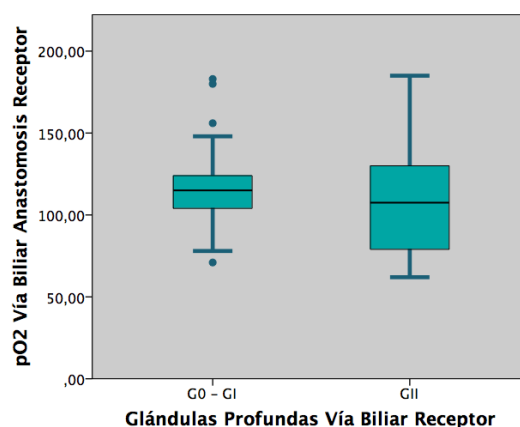


Fig. 37. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de lesión de las glándulas profundas de la vía biliar.

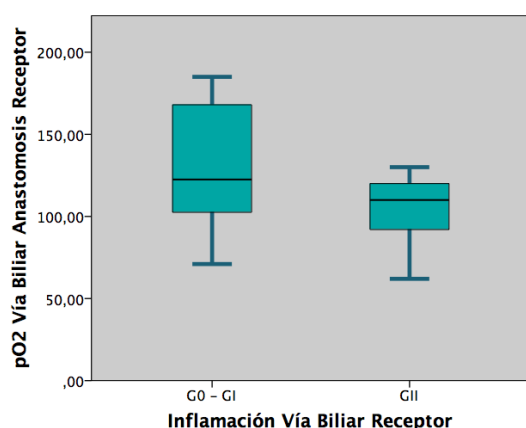


Fig. 38. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de inflamación de la vía biliar.

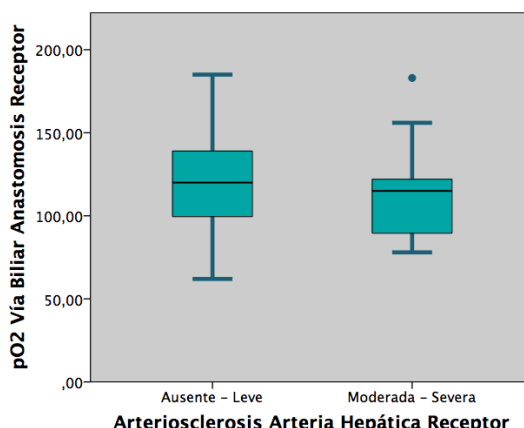


Fig. 39. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con el grado de arteriosclerosis de la arteria hepática del receptor.

#### e. Oxigenación de la vía biliar.- Correlación de complicaciones biliares



Al analizar las complicaciones de nuestra muestra, observamos que el número de complicaciones quirúrgicas fue de cinco casos (21,7%), de los cuales dos pacientes presentaron sangrado activo (uno de ellos se asoció también a una fuga biliar anastomótica), dos casos de complicación biliar (uno de ellos asoció una perforación colónica) y un caso de lesión del conducto torácico. De estos pacientes, precisaron una reintervención quirúrgica antes de los 30 días postoperatorios tres de ellos (13%), dos casos de hemoperitoneo durante las primeras 48 horas tras la cirugía y otro paciente como consecuencia de una perforación de ciego que asoció a su vez una fuga biliar. La mortalidad de la muestra a 90 días fue de 2 casos (8,7%), uno de ellos como resultado de un fallo multiorgánico secundario a una perforación de ciego debida al decúbito de un drenaje en un paciente con una fuga biliar asociada; y otro paciente como resultado de una perforación duodenal iatrógena secundaria a la realización de una CPRE en un reingreso hospitalario por una colangitis biliar por obstrucción de la prótesis biliar alojada por una estenosis biliar a nivel de la anastomosis tras 20 días de la cirugía.

Entre las complicaciones biliares diagnosticadas por CRMN en los primeros quince días de postoperatorio se contabilizaron 4 casos (17,4%), 3 pacientes presentaron fuga biliar y otro paciente presentó estenosis anastomótica. Si tenemos en cuenta cualquier tipo de alteración biliar diagnosticada por CRMN tras quince días de la cirugía, el número de pacientes asciende a un total de 7 pacientes (30,4%), al sumar a la cifra anterior 4 pacientes (17,4%) con ectasia leve biliar asintomática.

De la misma forma, el número de casos nuevos de alteraciones biliares diagnosticadas en la CRMN realizada tras 90 días de la cirugía fue de 1 caso de estenosis anastomótica con dilatación de vía biliar y 3 casos de ectasia leve asintomática. Por tanto, el número total de alteraciones biliares en la CRMN a los 90 días del trasplante hepático fue del 43%, mientras que el número de complicaciones biliares con repercusión clínica o

analítica fue de 5 casos (21,7%). Estas complicaciones biliares con repercusión clínica precisaron en 4 pacientes (17,4%) la colocación de una prótesis biliar para resolución del cuadro, mientras que un paciente con fuga biliar precisó una reintervención quirúrgica tras 20 días postoperatorios con resultado de muerte a los 80 días.

Se realizó un análisis correlacionando las complicaciones postquirúrgicas o alteraciones radiológicas a nivel de la vía biliar en la CRMN registrados durante los primeros 90 días postoperatorios en los receptores, con los datos de micro-oxigenación tisular medidos en la vía biliar del injerto y receptor.

En el caso de la vía biliar del injerto (tabla 19), objetivamos que alteraciones biliares radiológicas (ectasia biliar leve, fuga biliar o dilatación de la vía biliar) en la CRMN realizada a los 15 y 90 días postoperatorios, las complicaciones postquirúrgicas a 30 días, la necesidad de prótesis biliar y la mortalidad postoperatoria, se asoció a una presión de oxígeno tisular disminuido en la vía biliar del injerto alcanzando significación estadística ( $p < 0,05$ ). Las figuras 40 a 45 muestran la representación gráfica de las variables analizadas en forma de diagrama de cajas y bigotes.

VÍA BILIAR DONANTE					
P O2 TISULAR  (Media, mm Hg)	Diferencia  de medias	t	Intervalo de  Confianza 95%		p
			Inferior	Superior	
ALTERACIONES CRMN (15 DÍAS)					
NO	37,330	3,615	15,857	58,804	0,002
SÍ					
ALTERACIONES CRMN (90 DÍAS)					

<i>NO</i>	26,761	2,496	4,467	49,056	0,021
<i>SÍ</i>					
COMPLICACIONES 1 MES					
<i>SÍ</i>	-36,294	-3,218	-59,749	-12,838	0,004
<i>NO</i>					
COMPLICACIONES 3 MESES					
<i>SÍ</i>	-28,555	0,919	-18,172	46,958	0,368
<i>NO</i>					
PRÓTESIS BILIAR					
<i>SÍ</i>	-28,171	-2,173	-55,132	-1,209	0,041
<i>NO</i>					
MORTALIDAD					
<i>SÍ</i>	-53,850	-3,961	-82,121	-25,578	0,001
<i>NO</i>					

Tabla 19. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del injerto en función de las complicaciones postoperatorias.

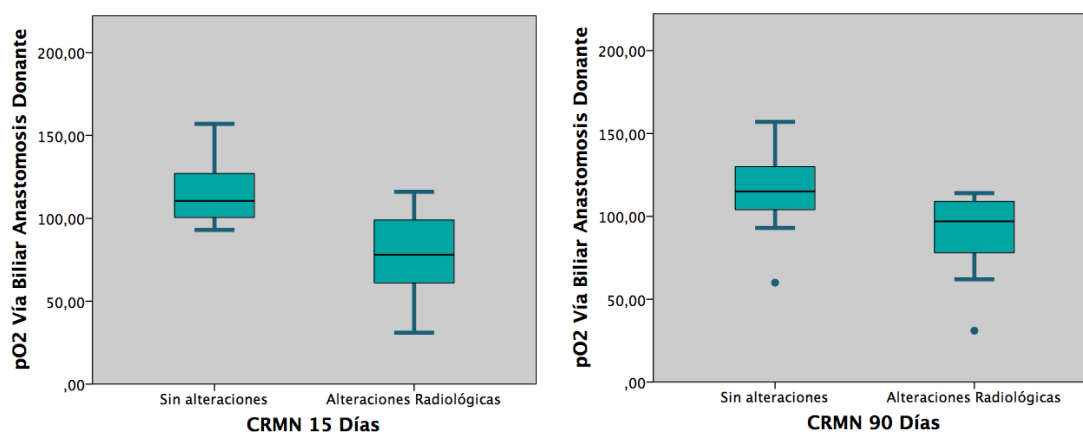


Fig. 40. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN 15 días postoperatorios.

Fig. 41. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN 90 días postoperatorios

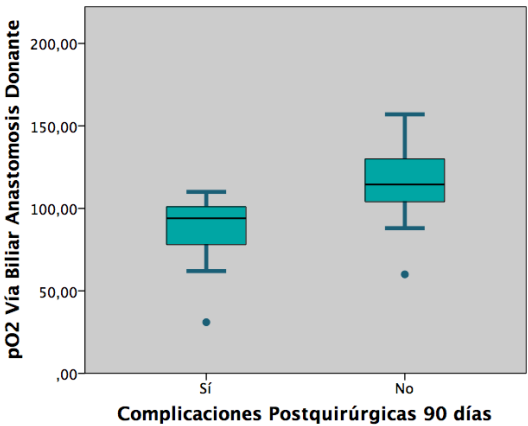
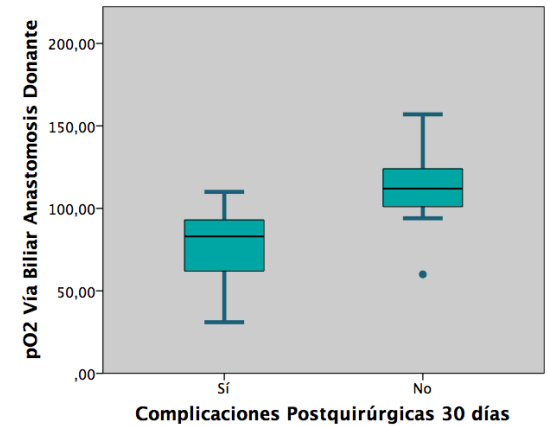


Fig. 42. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a los 30 días postoperatorios.

Fig. 43. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a los 90 días postoperatorios.

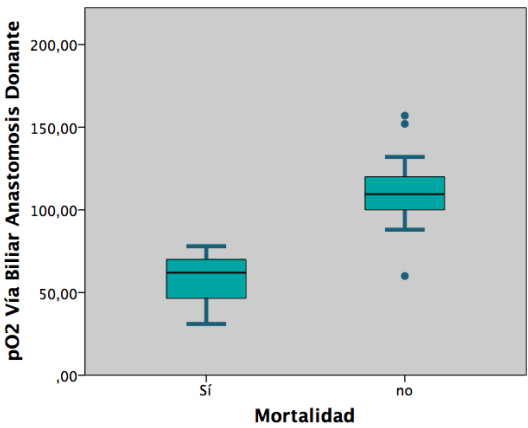
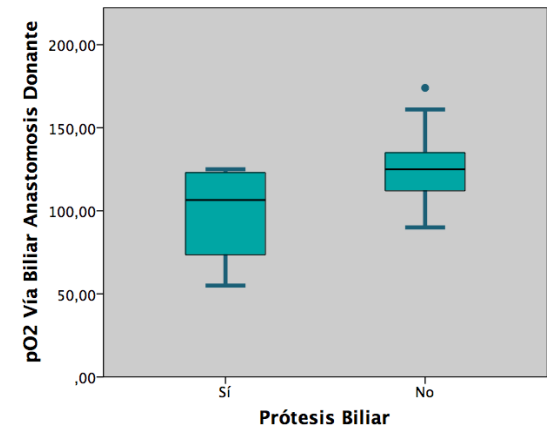


Fig. 44. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados estenosis de la vía biliar y uso de prótesis biliar.

Fig. 45. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del injerto correlacionados con mortalidad a 90 días.

Al correlacionar las complicaciones postquirúrgicas registradas con los datos de presión parcial de oxígeno tisular en la vía biliar del receptor (Tabla 20), observamos que alteraciones biliares radiológicas (ectasia biliar leve, fuga biliar o dilatación de la vía biliar) en la CRMN realizada a los 15 días postoperatorios, las complicaciones postquirúrgicas a 30 y 90 días, y la mortalidad postoperatoria, se asoció a una menor microoxigenación tisular estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). Las figuras 46 a 51 muestran la representación gráfica de las variables analizadas en forma de diagrama de cajas y bigotes.

VÍA BILIAR RECEPTOR					
P O2 TISULAR  (Media, mm Hg)	Diferencia  de medias	t	Intervalo de  Confianza 95%		p
			Inferior	Superior	
ALTERACIONES CRMN (15 DÍAS)					
SÍ	30,009	2,112	0,464	59,554	0,047
NO					
ALTERACIONES CRMN (90 DÍAS)					
SÍ	14,631	1,011	-15,475	44,736	0,324
NO					
COMPLICACIONES 1 MES					
SÍ	-32,657	-1,650	-63,357	-1,957	0,038
NO					

COMPLICACIONES 3 MESES					
<i>SÍ</i>	-26,786	-2,204	-52,061	-1,510	0,039
<i>NO</i>					
PRÓTESIS BILIAR					
<i>SÍ</i>	-21,026	-1,116	-60,201	18,148	0,277
<i>NO</i>					
MORTALIDAD					
<i>SÍ</i>	-48,267	-2,595	-86,942	-9,591	0,017
<i>NO</i>					

Tabla 20. Valores de microtensión de oxígeno. Resultados comparativos de medición de tensión tisular de oxígeno a nivel del borde anastomótico de la vía biliar del receptor en función de las complicaciones postoperatorias.

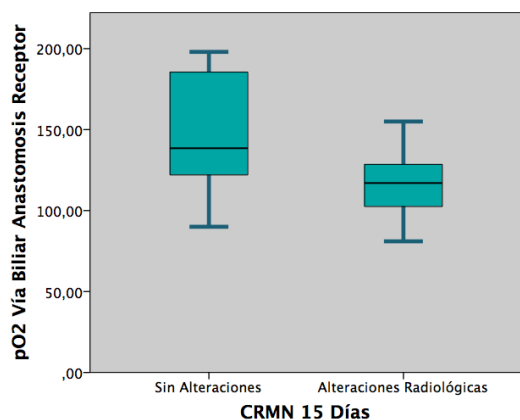


Fig. 46. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN a 15 días.

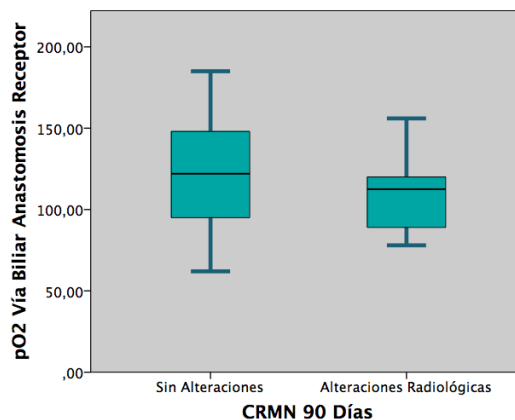


Fig. 47. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con alteraciones radiológicas en la CRMN a 90 días.

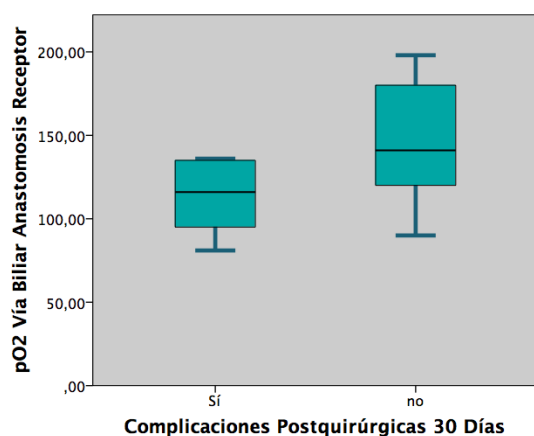


Fig. 48. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a 30 días postoperatorios.

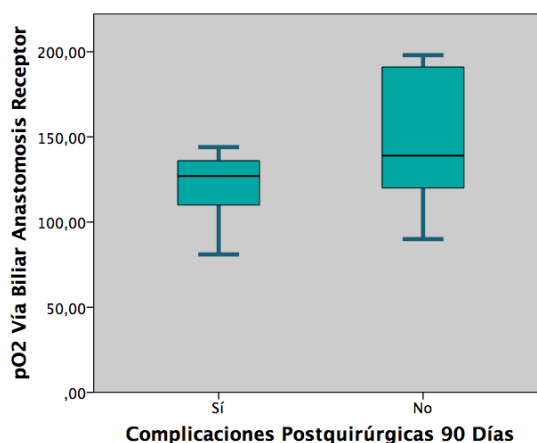


Fig. 49. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con complicaciones postquirúrgicas a 90 días postoperatorios.

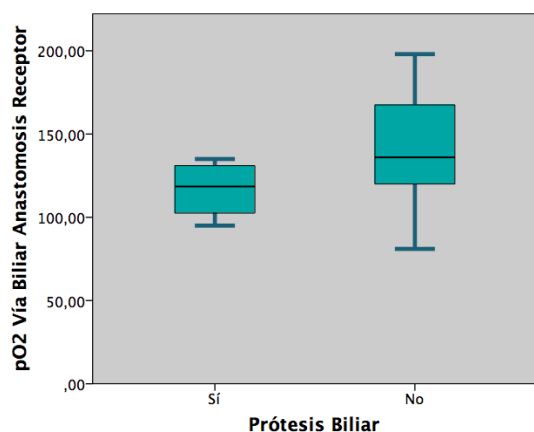


Fig. 50. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con estenosis en la vía biliar con uso de prótesis biliar.

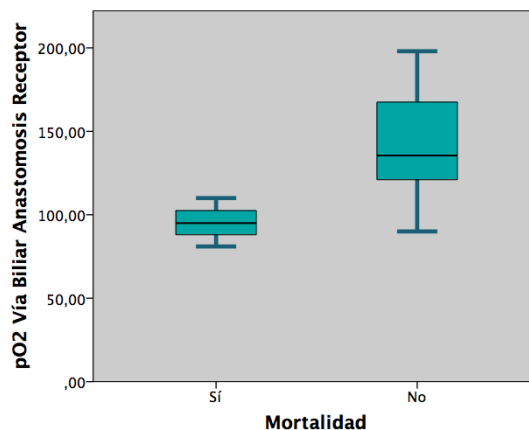


Fig. 51. Histograma con valores de microtensión de oxígeno a nivel anastomótico del receptor correlacionados con mortalidad a 90 días postoperatorios.





## 6. DISCUSIÓN

### a. De metodología

#### i. De los criterios de inclusión / exclusión

En las fases iniciales de nuestro trabajo, durante el diseño del mismo, nos decantamos por desarrollar un estudio observacional prospectivo de cohortes con el objetivo principal de estudiar la calidad microvascular y microoxigenación de la vía biliar tanto en el injerto como en el receptor, que nos permitiera seleccionar una muestra de pacientes representativa de la población general de trasplantados hepáticos de nuestro centro. El hecho de decantarnos por una cohorte prospectiva pura asegura un mejor seguimiento de la muestra y una correcta recogida de los datos. Por otro lado, con la intención de seleccionar una muestra de pacientes que fuese representativa, fueron incluidos todos los pacientes adultos sometidos a trasplante hepático descartando sólo aquellos en los que la reconstrucción biliar implicase la realización de una anastomosis biliar no colédoco-coledociana, pues para alcanzar nuestro objetivo necesitábamos estudiar tanto la vía biliar del donante como del receptor, por lo que únicamente en receptores con anastomosis colédoco-coledociana esto sería posible. Por tanto, ninguna condición en donantes o receptores, como por ejemplo comorbilidades asociadas o tratamientos previos en el receptor por diagnóstico de carcinoma hepatocelular, constituyó un criterio de exclusión en ningún caso, siendo posteriormente estos factores utilizados en el análisis estadístico para ulteriores comparaciones.

Al tratarse el estudio de un proyecto piloto y pionero, en un primer momento el tamaño muestral elegido fue de 10 pacientes incluidos de forma consecutiva, sin embargo con la

intención de mejorar la potencia estadística y facilitar la comparación de subgrupos definitivamente el tamaño muestral fue de 23 pacientes. Tras realizar el análisis estadístico completo, podemos asegurar que es un número apropiado que ha permitido en todas las comparaciones realizadas el uso riguroso de test estadísticos de tipo paramétrico tras demostrarse la normalidad de los subgrupos en todo caso.

## ii. De las mediciones oximétricas

La importancia clínica de la saturación de oxígeno tisular en diferentes campos de la medicina y sus implicaciones, ha conducido al desarrollo de numerosos métodos invasivos o no invasivos para su medición.

La crioespectrofotometría es uno de los métodos invasivos que han sido utilizados para el estudio de la oxigenación tumoral. Esta técnica incluye la determinación espectroscópica de la oxigenación en muestras congeladas extraídas del tejido.<sup>95</sup>

Otros métodos incluyen la inserción de diferentes marcadores en la circulación sanguínea y posteriormente se realizan mediciones de su distribución en un determinado tejido. Por ejemplo, la administración de marcadores inductores de hipoxia, nanocristales magnéticos y fluoroforos,<sup>96, 97</sup> y a continuación se iniciaría la monitorización de la oxigenación utilizando métodos invasivos y no invasivos. Aunque se ha demostrado que algunos de estos marcadores muestran una sensibilidad razonable a la hipoxia tisular, se trata de metodologías no totalmente desarrolladas.

Probablemente, el sistema más utilizado y que podría considerarse el gold standard es la medición mediante la punción de un electrodo con morfología de aguja. Sin embargo, aunque se trata de un método relativamente seguro, presenta numerosas desventajas, como el consumo de oxígeno desde el electrodo por reducción electroquímica, la infraestimación de los niveles de oxigenación y la necesidad de movilizar el electrodo

en el tejido a lo largo del tiempo para evitar un descenso de la señal. Este continuo movimiento del electrodo y la propia naturaleza invasiva del método de medición en el tejido no permite la monitorización de largos periodos, aunque se trata de un sistema muy útil para mediciones momentáneas.<sup>98-100</sup>

En los últimos años, probablemente debido a la mayor demanda de estas técnicas oximétricas, el electrodo ha experimentado amplias mejoras, utilizando sensores de oxígeno basados en la fluorescencia y usando tecnología de fibra óptica. El instrumento mide la vida media de la fluorescencia, la cual es inversamente proporcional a la concentración de oxígeno disuelto y una vez interpretados los resultados, la medición proporcionada es un valor absoluto de oxígeno en mmHg o kPa.<sup>98</sup>

Una vez valorados los diferentes sistemas de medición que existen actualmente en el mercado, y basándonos en nuestras necesidades para alcanzar nuestro objetivo, nos decantamos por el sistema OxyLite pro que proporciona mediciones de oxígeno en tiempo real e in vivo, al realizar lecturas directas de la disponibilidad de oxígeno a nivel celular y tisular. El sistema OxyLite realiza mediciones de presión parcial de oxígeno, es decir, ofrece una medición en valor absoluto del oxígeno disuelto en mmHg o kPa con compensación automática de temperatura, tras realizar una lectura directa del balance entre el aporte de oxígeno a través del torrente sanguíneo y el consumo de oxígeno por el metabolismo celular, por tanto, aporta una medición del oxígeno disponible a nivel tisular. Esta medición difiere de las ofrecidas por otros sistemas que utilizan técnicas de espectroscopia que miden saturación de oxígeno de la hemoglobina, que meramente describe la saturación de oxígeno en sangre.

Otra de las razones que nos hizo decidirnos por OxyLite fue la ausencia de consumo de oxígeno, lo que permite la medición de oxígeno tisular de forma continua, incluso en tejidos en condiciones de isquemia. Por otro lado, entre la variedad de sensores

específicos, el modelo de sensor MNP110 XP con un formato de aguja flexible de 0,05mm de diámetro constituida de fibras ópticas protegidas de PVC, fue el seleccionado para nuestro estudio, ya que gracias al pequeño calibre permite mediciones mínimamente invasivas en áreas de difícil acceso. Otra ventaja de este sistema consiste en la facilidad de uso, enormemente simplificado gracias a que los sensores son calibrados de fábrica y no requieren ser recalibrados con cada uso.

Por último, la extensa experiencia de otros grupos investigadores en el uso de OxyLite y la gran cantidad de trabajos publicados nos facilitó el manejo de esta tecnología, la interpretación de los registros y sus posibles limitaciones.<sup>88, 89, 101, 102</sup>

### iii. La problemática de la histología biliar

#### 1. Marcadores histológicos

Las complicaciones biliares son la mayor causa de morbilidad y de fracaso del injerto tras el trasplante hepático, con una incidencia que varía del - % en las diferentes series publicadas.<sup>38-42</sup> La mayor parte de estas complicaciones biliares consisten en estenosis y fugas biliares. Las estenosis de la vía biliar pueden clasificarse en estenosis de tipo anastomótica que se observan entre el 1-15% de los casos,<sup>54, 60, 103</sup> y las estenosis no anastomóticas con una incidencia que varía del 1-20% en pacientes con injertos procedentes de donación tras muerte cerebral y por encima del 30% en el caso de donantes en asistolia,<sup>69, 104, 105</sup> al sufrir una isquemia caliente adicional en el donante durante el periodo de tiempo entre que ocurre la parada cardiaca y se inicia la perfusión fría del órgano. Las estenosis biliares anastomóticas son debidas principalmente a problemas técnicos e isquemia local que provoca un cicatriz fibrótica a nivel de la anastomosis.<sup>76, 106</sup>

En el desarrollo de estenosis biliares no anastomóticas, la etiología parece ser multifactorial, habiéndose identificado varios factores de riesgo potenciales: la lesión por isquemia / reperfusión , el daño celular mediados por las sales biliares y el daño mediado por el sistema inmunológico. Es bien sabido que las células del epitelio biliar, o colangiocitos, son altamente sensibles a la isquemia, y que relativamente cortos periodos de isquemia provocan una rápida y prolongada depleción de ATP celular, que ocasionan una pérdida de las interconexiones celulares, con la consecuente separación de la membrana basal y descamación del revestimiento celular.

Varios estudios han demostrado recientemente que hasta el momento del trasplante se produce una relevante pérdida de células epiteliales de los conductos biliares en más del 80% de los injertos hepáticos procedentes de muerte cerebral, que ha sido correlacionado con la aparición de estenosis biliares.<sup>107</sup> Por un lado, en el trabajo de Brunner et al<sup>108</sup> se estudiaron biopsias tomadas del borde distal de la vía biliar extrahepática del injerto en el momento de su extracción y durante el trasplante, en una cohorte que incluyó 79 pacientes sometidos a trasplante hepático. Las biopsias obtenidas fueron examinadas usando microscopía óptica e inmunofluorescencia y la severidad de la lesión del epitelio biliar fue medible usando un score de daño de la vía biliar desarrollado por este mismo grupo.

El grado de daño biliar fue correlacionado en el estudio con la aparición de complicaciones biliares y entre los resultados obtenidos destaca el elevado porcentaje de injertos hepático con daño severo y pérdida de epitelio biliares a nivel de la vía biliar distal previo al implante. En el 86% de las biopsias tomadas previas al final de la isquemia fría presentan signos de pérdida celular. Además, Burnner et al observaron que la complicaciones biliares tras el trasplante hepático se correlacionaron con lesiones denominadas “relevantes” del epitelio biliar según el score histológico desarrollado por

ellos mismos. Con este estudio se describía por primera vez la presencia de daño estructural mayor previo al final del periodo de preservación en frío del órgano y el grado de lesión en el epitelio biliar solo sufrió un leve aumento en las biopsias obtenidas tras la reperfusión del órgano.

Lo que sugiere que otros mecanismos lesionales deben participar además de el daño producido por el proceso de isquemia-reperfusión precoz.

Probablemente, en las biopsias tomadas fueron estudiadas la proteínas tight junction TJP1 y Cl-1, cruciales para la estabilidad conectiva intercelular en la vía biliar, y esenciales componentes de la barrera sanguínea biliar, observando que ambas se encontraban alteradas tras el periodo de conservación en frío, y esta alteración era más severa tras la reperfusión del órgano. La desestructuración de estas proteínas tight junction puede colaborar en un deterioro de la función de la barrera del epitelio biliar que promueva la formación de moldes biliares<sup>109-111</sup> y que las sales biliares tóxicas puedan causar un daño adicional.<sup>112</sup>

Los resultados de este estudio estarían en concordancia con el publicado por Hansen et al<sup>90</sup> que sobre una cohorte de 96 pacientes sometidos a trasplante hepático estudiaron el grado de lesión histológico utilizando también un score desarrollado por ellos mismos, que además de estudiar la pérdida de epitelio biliar, incluye el grado de lesión al plexo vascular peribiliar y la necrosis del estroma de la vía biliar. La biopsia para el estudio procedían del borde distal de la vía biliar del injerto hepático tras la reperfusión y previa a la reconstrucción biliar. El porcentaje de pérdida de epitelio biliar severo fue del 88%, similar al obtenido por Brunner et al. Pero la novedad de este estudio, es que sugiere que la presencia de arteriolonecrosis en la pared de la vía biliar se asocia de forma contundente con el desarrollo de estenosis biliares tras el trasplante.

Ambos estudios proporcionan información muy útil acerca de marcadores histológicos que podrían ayudar a predecir la aparición de complicaciones biliares tras el trasplante hepático, además de ampliar el conocimiento actual sobre los diferentes mecanismos que participan en la etiopatogenia de las estenosis biliares no anastomóticas.

En consonancia con estos dos trabajos publicados, en nuestro análisis, el porcentaje de pérdida severa (grado 2) del epitelio biliar en la vía biliar del injerto, fue del 73,9%, sin embargo esta alteración no se correlacionó con una disminución de nuestra variable a estudio, la presión de oxígeno tisular. Por el contrario, nuestro estudio, de forma análoga lo expuesto por Hansen et al, demuestra de forma pionera que la presencia de lesión del estroma mural (grado 2-3), grado II en el plexo vascular peribiliar y grado II de sangrado intraluminal, se asociaron a una menor microoxigenación tisular estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ), y a su vez esta presión parcial de oxígeno disminuida en la vía biliar del injerto fue asociada a complicaciones biliares a un mes post-trasplante, alteraciones en la vía biliar en la CRMN a los 15 y 90 días postoperatorios y una mayor mortalidad.

Nuestros resultados sobre microoxigenación tisular biliar amplían la evaluación del papel que tiene el daño de la microvascularización, estudiando conjuntamente la arteriolonecrosis y la necrosis estromal sobre las complicaciones biliares y más concretamente sobre el desarrollo de estenosis biliares de origen isquémico, apoyando el concepto de microangiopatía como parte fundamental de su patogénesis.

Otro resultado relevante procedente de nuestro análisis, es la correlación de la presencia de arteriosclerosis moderada o severa en la arteria hepática del donante con datos de presión parcial de oxígenos menores, que haría referencia a factores de riesgo cardiovascular en el donante que podrían tener implicaciones en el estado de la microvascularización. Entre las comorbilidades relacionadas con una aumento de riesgo

cardiovascular estudiadas en el donante que se asociaron a una oxigenación tisular en la vía biliar disminuida, fueron la diabetes mellitas ( $p=0,035$ ), hipertensión arterial ( $p=0,047$ ) e IMC  $>30 \text{ kg/m}^2$  ( $p=0,049$ ). EL daño del plexo peribiliar vascular ha sido señalado como factor fundamental en la patogenesis de las estenosis no anastomóticas, apoyado por otros muchos autores que demostraron también que el uso de presiones elevadas de perfusión aórtica suponía una significativa disminución del número de casos con esta complicación.<sup>61, 113</sup> Hansen et al no consiguió encontrar diferencias estadísticamente significativas tras su evaluación histológica entre pacientes con estenosis no anastomóticas y estenosis anastomóticas, por lo que podría ser discutible el papel del plexo vascular peribiliar en la patogenia de las estenosis biliares de tipo isquémico. Sin embargo, sí encontró diferencias estadísticamente significativas entre pacientes con estenosis no anastomóticas y estenosis anastomóticas en el porcentaje de arteriosclerosis (83% y 32% respectivamente), además la arteriosclerosis fue confirmada como factor predictivo de estenosis de tipo no anastomótica, tras un análisis de regresión logística.

Por otro lado, el sangrado intramural severo junto con la necrosis mural, según sugiere Hansen et al en su estudio, estarían íntimamente relacionados a la arteriolonecrosis por un mecanismo patogénico común: el daño hipóxico endotelial que provoca edema subendotelial en un primer momento y que posteriormente causa la arteriolonecrosis y necrosis mural. Esto tres parámetros (arteriolonecrosis, sangrado intramural y necrosis estromal), identificados por Hansen como cruciales para el desarrollo de estenosis de tipo isquémico, también han sido identificados en nuestro análisis correlacionándose con peores datos de microoxigenación tisular en la vía biliar del injerto, y por consiguiente, mediciones de valores disminuidos de tensión de oxígeno tisular en la vía



biliar podría hacer referencia a un mayor riesgo de microangiopatía biliar, y por tanto, de futuras complicaciones biliares.

Sin embargo, cabe destacar que en nuestro estudio se objetivó que el valor medio de presión parcial de oxígeno es mayor en el área de medición distal al borde terminal anastomótico en el donante y además observamos que las anastomosis biliares realizadas en el borde de sección de la vía biliar donante por encima de la inserción del conducto cístico, presentaban mayores datos de oxigenación tisular. De modo, que este hallazgo confirmaría nuestra hipótesis por la que la vascularización en regiones distales de la vía biliar sería más precaria y que en regiones proximales a los troncos arteriales principales, presentarían una microvascularización de mayor calidad a pesar del daño histológico producido en la vía biliar por isquemia-reperfusión y otros factores ya señalados.

Por el momento, el descubrimiento realizado por nuestro grupo, por el que la vascularización en el extremo terminal del borde de la vía biliar tanto de donante como de receptor es un área hipovascularizada, con una microoxigenación tisular deficiente y que mejoraría en áreas distales a dicho borde, no ha sido posible confirmarlo con hallazgos histológicos estadísticamente significativos entre biopsias del borde terminal de la vía biliar y biopsias distales a este borde, ya que no existe la posibilidad de obtener muestras de la vía biliar proximal o intrahepática sin riesgos para el injerto o el paciente. Por tanto, la medición de la microtensión tisular de oxígeno en la vía biliar se convierte en la única herramienta intraoperatoria no invasiva de la que dispondríamos actualmente que ha demostrado marcar de forma cuantitativa el aumento en la microoxigenación a lo largo de la vía biliar y por tanto el aumento de la calidad de su microvasculatura.

Tras lo expuesto, podríamos decir que el daño histológico biliar en el injerto está universalmente presente (>74%) en el momento del trasplante, sin embargo, las complicaciones biliares estenóticas solo están presentes en una minoría de receptores, lo que ha dirigido a la hipótesis de que la proliferación y regeneración de la arquitectura histológica biliar, debe ser mayor que el daño inicial, y por tanto desempeñaría un papel fundamental en la patogénesis de la estenosis biliares de tipo isquémico.<sup>114</sup> Este proceso de proliferación y regeneración no es bien conocido, pero si se sabe que requiere por un lado un adecuado aporte de oxígeno y nutrientes, y por otro lado, una fuente vital de células biliares epiteliales que pueden proliferar y con capacidad de regenerar. Respecto a la regeneración del epitelio biliar, se ha identificado a las glándulas peribiliares como un importante nido de progenitores celulares a nivel biliar,<sup>115-119</sup> y estas células progenitoras se han identificado principalmente en las glándulas peribiliares localizadas en las capas más profundas de la pared biliar.<sup>115, 119</sup>

En esta línea, S. Op den Dries<sup>91</sup> desarrolló un estudio multicéntrico prospectivo que incluyó 158 procedimientos de trasplante hepático con el objetivo de determinar el impacto del daño en las glándulas peribiliares en el desarrollo de estenosis biliares post-trasplante y determinar posibles diferencias en la severidad del daño de la vía biliar pretrasplante entre donantes procedentes de muerte cerebral o cardíaca. Los resultados del estudio sugerían que la pérdida de células epiteliales de las glándulas peribiliares profundas durante la preservación fría constituye un factor de riesgo mayor para el desarrollo de estenosis no anastomóticas. Por otro lado, la lesión del plexo vascular peribiliar y la necrosis mural estromal también se asocia de forma significativa con este tipo de complicaciones biliares, por el contrario, la pérdida de células de epitelio biliar a nivel luminal no se correlacionó con estenosis de tipo isquémico. La lesión en la vasculatura peribiliar se observó con más frecuencia en la vía biliar del injerto

procedente de donantes en asistolia comparado con donantes procedentes de muerte cerebral.

## 2. Clasificaciones biliares

Con el fin de realizar un estudio histopatológico apropiado de las muestras obtenidas de la vía biliar de donante y receptor, procedentes de áreas contiguas al borde anastomótico, se evaluaron las diferentes escalas que clasifican el grado lesional de los diferentes componentes de la pared biliar. Por un lado, Brunner et al<sup>108</sup> en el estudio comentado en el apartado previo, desarrolló un score para cuantificar el grado de lesión del revestimiento epitelial de la vía biliar principal. Se trata de una escala semicuantitativa que diferencia entre cuatro categorías de lesión:

- a. G0: Epitelio biliar normal.
- b. G1: epitelio aplanado pero con presencia de células normales
- c. G2: Epitelio biliar lesionado con conservación de tejido conectivo subepitelial.
- d. G3: Epitelio biliar destruido.

La medición se realizó determinando a través de microscopía digital al longitud de segmento de cada tipo de grado lesional , y expresado en porcentaje del total de longitud de la muestra de vía biliar principal estudiada. Las muestras con G0, G1 menos de un 10% de G2 o G3 fueron definidos como grupo con “lesión relevante” mientras que muestras con mayor del 10% de lesión tipo G2 o G3 fueron clasificadas como grupo con “lesión mayor”. El punto de corte del 10% de G2 o G3 fue elegido para poder descartar artefactos del proceso de tinción como lesión mayor. Este sistema de clasificación, tras ser evaluado por Brunner y col, resultó ser una útil herramienta para predecir el desarrollo de complicaciones biliares tras el trasplante hepático. Sin

embargo, a pesar de tratarse de un método reproducible e independiente del examinador, económico, y de fácil y rápida ejecución, para el objetivo de nuestro estudio resultaba una escala de grado lesional histológico biliar incompleta que no aportaba información alguna sobre el estado de la microvascularización biliar.

En esta línea, el score descrito por Hansen et al<sup>90</sup> resulta ser mucho más completo al englobar múltiples escalas de grado de lesión biliar, que además de estudiar la pérdida celular del epitelio biliar, incluye el grado de daño del plexo vascular peribiliar, presencia de arteriolonecrosis, trombosis vascular, sangrado mural, inflamación y grado de necrosis del estroma mural. Este sistema de estadificación del grado de daño de los componente de la pared biliar se ajustaba adecuadamente a las necesidades de nuestro estudio ya que aporta información detallada de la calidad de la vasculatura.

Sin embargo, finalmente no decantamos por la escala desarrollada por S. op den Dries y col<sup>91</sup> que además de valorar el grado de daño del epitelio biliar, la necrosis de estroma mural y el plexo vascular peribiliar siguiendo el sistema de score histológico descrito por Hansen et al,<sup>90</sup> incluye el grado de lesión de las glándulas peribiliares usando una escala de estratificación desarrollada por este grupo, en las que se evalúan de manera separada las glándulas subluminales o superficiales y las glándulas biliares profundas localizadas entre el estroma mural y la capa muscular. Con este sistema de score no solo conseguimos evaluar la calidad microvascular de la vía biliar en el injerto hepático, sino que además obtenemos datos del estado del nicho de progenitores celulares biliares, imprescindibles en la regeneración biliar. Se trata de una escala (tabla 2) reproducible e independiente del observador, además de fácil aplicabilidad que realiza una evaluación detallada de cada componente de la pared biliar, y recoge datos imprescindibles para nuestro estudio como es el estado de la microvasculatura biliar.

## b. Bibliográfica

### i. Mecanismos de prevención de la complicación biliar: Del Kehr a la medición oximétrica intraoperatoria

Debido a la vulnerable vascularización y microvascularización del árbol biliar, las complicaciones biliares tras el trasplante hepático ortotópico siguen siendo su punto crítico, y suponen la mayor fuente de morbilidad y mortalidad en el postoperatorio. La hipótesis inicial de nuestro estudio señalaba como origen de las complicaciones biliares por un lado la vascularización lineal que presenta la vía biliar, y por otro lado, la falta de análisis científicos con diseño apropiado que estudie la fisiopatología biliar en función de factores presentes en el donante y receptor que podrían correlacionarse con alteraciones en la oxigenación del árbol biliar.

Contamos con manuscritos publicados que han estudiado profundamente la vascularización biliar. De acuerdo con un reciente trabajo publicado,<sup>120</sup> se identifican 4 áreas diferenciadas en la vascularización de la vía biliar: primera porción, compromete el conducto cístico y vesícula biliar; segunda parte, corresponde a la vía biliar izquierda y derecha; la tercera porción, sería el conducto hepático común y porciones supra y retroduodenal de la vía biliar; por último, una cuarta porción, que corresponde al área pancreática y retroduodenal. La tercera porción, la cual corresponde con el lugar donde la anastomosis es realizada, es crítica. La arteria retroportal, presente en el 90% de los pacientes, es un importante aporte vascular de la tercera porción del sistema ductal extrahepático. Su recorrido parte en la vecindad del tronco celiaco (41.7%) o arteria mesentérica superior (58.3%), pasa por la derecha y posterior a la vena portal y el margen posterosuperior de la cabeza del páncreas para alcanzar la porción retroduodenal de la vía biliar por su cara posterior. Tras esto, suele finalizar uniéndose a las arterias pancreaticoduodenales posteriores o a la arteria hepática derecha. El resto de la

vascularización de esta área por “the chain”, que pasa cerca de las caras laterales de la vía biliar, pasando a denominarse arterias marginales anastomóticas derecha e izquierda. La arteria marginal izquierda alcanza desde las arteria pancreaticoduodenales (86%) o gastroduodenal (13.2%), y continua distalmente hasta unirse a la arteria hepática derecha (63.2%), la arteria cística (26.3%) u otras (5.3%). La arteria marginal derecha parte de las arteria pancreaticoduodenales (87.9%) o gastroduodenal (12.1%), y recorre cranealmente hasta unirse a la arteria cística (66.7%), o la arteria hepática derecha (33.3%). De esta cadena longitudinal destaca su longitud, arterias marginales de escaso calibre (diámetro medio de 0.3mm) es precario. Además, esta tercera porción recibe una baja proporción de aporte arterial comparado con otras porciones que tiene como resultado un aporte sanguíneo pobre. Por tanto, esta anatomía vascular de la vía biliar la hace vulnerable a la isquemia, que además puede ser fácilmente dañado durante la técnica quirúrgica en el trasplante hepático si la disección de la vía biliar es excesiva a nivel de sus caras laterales.

La variedad de complicaciones biliares es amplia, siendo las más frecuentes las fugas biliares y la estenosis biliares ya sean anastomóticas o no anastomóticas. Como consecuencia de las relevantes implicaciones de estas complicaciones, tanto desde el punto de vista clínico como económico, en los últimos años sus mecanismos etiopatogénicos y los factores de riesgo implicados han sido objeto de estudio.

La evidencia actual indica que las complicaciones biliares a nivel de la anastomosis se relacionan principalmente con la técnica quirúrgica y la isquemia local del borde distal del conducto biliar.<sup>76, 106</sup> Por el contrario, la etiología de las estenosis no anastomóticas resulta ser multifactorial, y los mecanismos lesivos de la vía biliar identificados con mayor relevancia son la lesión por isquemia-reperfusión, lesión mediada por el sistema inmunológico y por sales biliares hidrofóbicas.

Con la intención de señalar las medidas o factores de protección que contribuyen a evitar o minimizar las complicaciones biliares, seguiremos este esquema diferenciando las complicaciones anastomóticas de las no anastomóticas.

### 1. Complicaciones anastomóticas.

La reconstrucción biliar en el trasplante hepático ha sufrido una intensa evolución desde sus inicios, fruto de la preocupación que ha concentrado desde siempre las complicaciones biliares, por su elevada incidencia como por la morbimortalidad que supone. Las fistulas anastomóticas y las estenosis se han asociado a la presencia de factores de riesgo similares.

Entre los factores de riesgo que se han asociado a una mayor tasa de estenosis anastomóticas y que serían no modificables, encontramos el uso de donantes con criterios expandidos.<sup>54</sup> Además la incidencia de estas estenosis en la anastomosis biliar han aumentado desde el inicio de la era MELD, identificado como un factor de riesgo independiente por sí solo,<sup>47</sup> pero también la concurrencia de otros factores como la presencia de donantes añosos y el aumento de la incidencia de trombosis de la arteria hepática. Un IMC superior a 25 kg/m<sup>2</sup> en el donante,<sup>121</sup> así como el antecedente de fuga biliar postoperatoria<sup>47, 54</sup> y la recurrencia precoz de la infección por VHC<sup>122</sup> también se han relacionado con tasas más elevadas de complicaciones biliares, y en concreto de estenosis biliares anastomóticas. Por otro lado, los factores de riesgo identificados como más relevantes para el desarrollo de complicaciones anastomóticas son una inadecuada técnica quirúrgica y complicaciones arteriales o relacionadas con isquemia local, factores que sí pueden ser influenciados.

La técnica quirúrgica de la reconstrucción biliar ha sufrido múltiples modificaciones, siendo actualmente la anastomosis termino-terminal coledoco-coledociana el

procedimiento estándar para el trasplante hepático ortotópico.<sup>13</sup> Las anastomosis bilioentéricas quedarían reservadas como procedimiento de elección en casos de desproporción en el diámetro de la vía biliar de donante y receptor, atresia de vía biliar o retrasplante, que aunque en algunos estudios han demostrado resultados similares en cuanto a la tasa de complicaciones biliares,<sup>123</sup> en otro trabajos la tasa de complicaciones son mayores respecto a la anastomosis coledoco-coledociana,<sup>40</sup> evitando con ésta última complicaciones de tipo séptico y colangitis al preservar el esfínter de Oddi. Entre variantes técnicas de la anastomosis coledoco-coledociana se incluyen la opción de realizarla termino-terminal, termino-lateral o latero-lateral. A pesar de las teóricas desventajas que presentaría la opción termino-terminal debido a una peor microvascularización y oxigenación de los bordes distales de la vía biliar en donante y receptor, y la ventaja que supone la variante anastomótica latero-lateral para igualar los calibres distales desproporcionados de la vía biliar, el grupo de Neuhaus et al. que propuso como mejor opción la reconstrucción biliar latero-lateral, no pudo demostrar beneficios significativos<sup>19, 20</sup> respecto a las otras variantes anastomóticas.

También se ha puesto en tela de juicio la realización de la anastomosis biliar con una sutura continua o a puntos sueltos, sin haberse identificado diferencias significativas entre ambas opciones,<sup>24, 47</sup> sin embargo, sí parece claro que la tasa de estenosis anastomóticas es menor con el uso de la sutura discontinua principalmente cuando se trata de una vía biliar de diámetro escaso.<sup>24</sup> Además se recomienda el uso de monofilamento 5/0 o 6/0 con una distancia entre puntos de aproximadamente 2mm.

Otros aspectos técnicos validados para la realización de una anastomosis biliar en las mejores condiciones, incluyen una técnica quirúrgica exquisita tanto durante el implante del injerto como durante la extracción del órgano, que evite una disección excesiva de la vía biliar e intentar obtener una vía biliar no excesivamente larga y sin tortuosidades



que aseguren una apropiada microvascularización de los conductos biliares y un drenaje biliar sin obstáculos.<sup>124</sup> Se recomienda también para mantener una apta perfusión biliar y evitar la isquemia local, comprobar el sangrado activo del borde distal de la vía biliar, preservando el tejido periductal sin dañar la vasculatura con un exceso de electrocauterio y manteniendo íntegros los dos principales arterias responsables del aporte sanguíneo hasta el borde distal de la vía biliar por los márgenes izquierdo y derecho, las arterias a las 3 y 9 h.

Otro punto interesante de la reconstrucción biliar es el debate controvertido que sigue manteniéndose actualmente sobre el uso beneficioso o no del tubo en T en la anastomosis. Teniendo en cuenta los estudios presentes en la literatura sigue sin existir consenso sobre la utilidad real del tutor biliar. Los trabajos que abogan por abandonar su uso se basan en evitar las complicaciones biliares relacionadas con el tubo en T y por tanto la reducción global de complicaciones biliares. Sin embargo, los grupos que defienden su uso se basan en el beneficio de reducir las estenosis anastomóticas y facilitar el acceso a la vía biliar. Estudios aleatorizados han demostrado que no existen beneficios evidentes con el uso del tutor biliar y por tanto, no estaría justificado.<sup>32, 34, 35</sup> De la misma forma, la publicación de varios metanálisis concluyen que no existen evidencias a favor del uso del tubo en T.<sup>32, 34</sup> Sin embargo, parece aceptado que el uso del tutor biliar puede disminuir la tasa de estenosis anastomóticas y que las complicaciones biliares que se observan, principalmente fugas biliares, son clínicamente menos relevantes y de fácil resolución.<sup>125</sup>

Otro aspecto destacable hace referencia a los métodos actuales para preservar el injerto hepático, que no protegen de forma adecuada el epitelio biliar, al igual que los líquidos de perfusión utilizados, que sólo consiguen una preservación subóptima de los colangiocitos. La preservación del epitelio y sus implicaciones en complicaciones

biliares anastomóticas y no anastomóticas podrían ser mejoradas mediante la preservación normotérmica que evitaría el daño producido por la preservación en frío.<sup>126</sup>

Ante la necesidad de desarrollar métodos no invasivos que puedan ser usados previamente al implante hepático y que aporten información del estado del epitelio biliar y de la calidad de la microvascularización, se ha propuesto el uso de técnicas de imagen molecular en combinación con la colangioscopia, que permitiría al cirujano de forma intraoperatoria valorar la viabilidad del árbol biliar y de su extremo distal para seleccionar un nivel apropiado de la vía biliar para realizar la anastomosis biliar en las mejores condiciones.

Otra opción disponible es la planteada por Brunner et al<sup>108</sup> mediante el uso del score desarrollado por su grupo que estratifica el riesgo de complicaciones biliares en función del daño observado en el epitelio biliar de la vía biliar donante como lesión “no relevante” o “mayor”. Se trata de un método fácilmente aplicable que sólo precisa de un estudio histológico, que tendría una duración de unos 20 minutos, en una muestra de biopsia del extremo distal de la vía biliar del donante durante la preservación en frío. El resultado de la biopsia podría influir en la decisión del cirujano sobre la anastomosis biliar, que podría inclinarse según la calidad del epitelio biliar, a realizar una anastomosis bilioentérica en lugar de la coledoco-coledociana estándar para minimizar el riesgo de complicaciones.<sup>108</sup>

Por último, la principal aplicación en la práctica clínica que aporta nuestro estudio es la posibilidad de tener una herramienta intraoperatoria que nos informaría de la microtensión tisular de oxígeno de la vía biliar a diferentes niveles y obtener un mapa del estado de su vascularización y microoxigenación, y por tanto de las posibilidades de éxito de la anastomosis biliar. La medición en tiempo real de la presión parcial de

oxígeno puede influir en la decisión del nivel de sección de la vía biliar en donante y receptor, que según los datos obtenidos, esta vascularización mejora en áreas proximales al hilio hepático y que las anastomosis biliares realizadas por encima de la inserción del conducto cístico en la vía biliar del donante, son anastomosis con mejor vascularizadas, lo que supone un factor protector de complicaciones biliares en esta anastomosis.

La utilidad de esta herramienta intraoperatoria no invasiva que proponemos, sería de más utilidad si conseguimos delimitar un valor de corte de tensión tisular de oxígeno por debajo del cual se relacionase con un mayor riesgo de complicaciones biliares y peor datos histopatológicos. Alcanzar este valor de corte es difícil con los resultados de este estudio piloto.

## 2. Complicaciones no anastomóticas.

Las estenosis no anastomóticas pueden tener diferentes presentaciones, y su severidad y localización también es muy variable. El estudio de Buis et al<sup>126</sup> documentó diferencias anastomóticas en la localización y en los mecanismos etiopatológicos responsables de este tipo de complicación biliar. Este estudio distinguió entre complicaciones tempranas (menores de un año) y tardías, observando que las primeras se localizaban principalmente en las proximidades de la bifurcación biliar y en la vía biliar extrahepática, y se asocian a variables relacionadas con mecanismos de isquemia. Por el contrario, las estenosis no anastomóticas tardías se localizaban preferentemente en la periferia hepática, y el mecanismo etiopatológico de tipo inmunológico parece que juega un papel fundamental.

Son múltiples los factores de riesgo que se han identificado asociadas a las estenosis no anastomóticas, lo que sugiere un origen multifactorial.<sup>60</sup> En general, los mecanismos

patogénicos estudiados hasta el momento asociadas a este tipo de estenosis podríamos dividirlas en tres categorías: lesión por isquemia – reperfusión, lesión de tipo inmune y daño citotóxico por sales biliares hidrofóbicas. El estudio en profundidad de estas variables no solo ha facilitado conocer el origen multifactorial de la patogenia de las estenosis no anastomóticas y el peso específico de estos factores, sino que también ha propiciado la identificación de posibles medidas de protección que puedan reducir el impacto de los diferentes mecanismo implicados en este tipo de complicación biliar.

- Lesiones por isquemia o microangiopatía.

Un objetivo claro para reducir la lesión por isquemia a nivel de los ductos biliares en el trasplante hepático ortotópico consiste en disminuir los tiempos de isquemia fría y caliente. Se han objetivado tasas de estenosis no anastomóticas menores cuando los tiempos de isquemia fría fueron inferiores a 13 horas.<sup>60, 69</sup> Por otro lado, circunstancias como la reperfusión portal seguida de la perfusión arterial o la reperfusión retrograda a través de vena cava podrían alargar los tiempos de isquemia caliente que se ha correlacionado en algunos estudio con un aumento de la incidencia de este tipo de estenosis.<sup>127-129</sup>

Otra situación que se ha identificado como factor de riesgo es la donación en asistolia en la que se suma la isquemia caliente en el donante,<sup>104, 130</sup> el daño de la isquemia fría y la lesión por reperfusión, con resultado de mayor degeneración del epitelio biliar. Para contrarrestar este incremento de riesgo de estenosis no anastomóticas en injertos procedentes de donantes en asistolia, algunos autores proponen el uso del tubo en T en la anastomosis biliar cuando se añadan tanto en el donante como en el receptor otros factores de riesgo,<sup>131</sup> y también se ha propuesto como una medida protectora el uso de la trombolisis durante la donación,<sup>132</sup> aunque serían necesarios estudios randomizados que apoyen esta medida.

Otro mecanismo lesional conocido es el producido durante la preservación del injerto, con el uso de soluciones de mayor viscosidad, como la solución de Wisconsin,<sup>113</sup> que impide una adecuada perfusión de las arteriola biliares, por lo que aumenta el riesgo de microangiopatía y por tanto de estenosis de tipo isquémico.<sup>56, 113</sup> Por tanto, el uso de soluciones de menor viscosidad para la reperfusión arterial a altas presiones durante el trabajo de banco del injerto, se han propuesto como beneficiosas para evitar las estenosis no anastomóticas.<sup>61, 113</sup>

Otras de las medidas encaminadas a disminuir el daño por isquemia-reperfusión es la propuesta por algunos autores, aunque con escasa experiencia publicada, mediante el uso de máquinas de perfusión normotérmica que disminuiría la lesión por isquemia sobre el injerto hepático y a su vez el daño a las células del epitelio biliar, con la consiguiente disminución en la tasas de estenosis no anastomóticas.<sup>133</sup>

Con la aplicación del dispositivo Oxy pro para la medición de microtensión tisular de oxígeno, disponemos de un método intraoperatorio fácil de usar y reproducir que informa en tiempo real de la microoxigenación tisular de la vía biliar de forma objetiva y de la calidad microvascular de forma subjetiva a nivel de toda la vía biliar extrahepática. Datos durante la medición de presión parcial de oxígeno en la vía biliar donante, en nuestro estudio se ha asociado de forma significativa a lesión Grado II-III estromal biliar, lesión GI-III del plexo vascular peribiliar y lesión GII de sangrado intraluminal, y a su vez se ha asociado a mayores tasas de complicaciones biliares postoperatorias. Sería difícil considerar nuestro estudio de utilidad para la medición de la colangiopatía isquémica, pues esta hipooxigenación difusa sería difícil de detectar. No obstante, este campo de investigación quedaría abierto. Otra limitación de esta herramienta sería que sólo es posible estudiar la vía biliar extrahepática, y no sería

posible valorar la microoxigenación de los ductos biliares intrahepáticos que también son asiento frecuente de este tipo de estenosis.

- Factores inmunológicos.

La implicación exacta del sistema inmune en la patogenia de las estenosis no anastomóticas sigue sin quedar suficientemente claro, por lo que no existen medidas protectoras identificadas.

Hasta el momento, únicamente la profilaxis contra la infección por CMV se han observado como una medida preventiva efectiva para evitar las estenosis de tipo isquémico en receptores con serología negativa para CMV,<sup>134, 135</sup> al haberse constatado que la infección primaria por CMV presenta una clara asociación con un aumento de la incidencia de estenosis no anastomóticas.

- Sales biliares hidrofóbicas.

La acumulación de sales biliares hidrofóbicas a nivel del árbol biliar supone un daño añadido al epitelio biliar, y juega un papel adicional junto al resto de mecanismos patogénicos en el daño del árbol biliar tras el trasplante hepático. Esta acumulación de sales biliares se debe en parte a que las sales biliares son ácidos con efectos tóxicos para los colangiocitos que habitualmente son neutralizada por la formación de micelas con fosfolípidos. Tras el trasplante parece que los ácidos biliares son secretados con mayor avidéz respecto a los fosfolípidos,<sup>55, 76, 136</sup> de manera que se produce un aumento de los ácidos biliares alterados en su composición, con un incrementado potencial tóxico, provocado por un desequilibrio añadido en el transportador responsable de la secreción desde la célula que aumenta su concentración y por tanto su efecto lesivo.<sup>137</sup>

Se recomienda un adecuado y profuso lavado retrógrado de la vía biliar durante la preparación del injerto,<sup>138-140</sup> sin embargo, a pesar de esta eliminación mecánica, podría

no ser suficiente para eliminar este daño. Ciertas terapias, como el uso del ácido ursodesoxicólico, parecen haber mostrado beneficios al sustituir las sales biliares hidrofóbicas por un aumento de concentración de sales biliares de tipo hidrófilo, que se ha sugerido, tienen un papel citoprotector sobre los colangiocitos, aunque no existen aún trabajos publicados en la literatura que demuestren que el uso de este tipo de fármacos tengan un efecto directo o indirecto sobre un descenso en la tasa de estenosis no anastomóticas. De la misma forma, otras terapias como la estimulación de producción de bicarbonato por los colangiocitos tenga también un efecto protector sobre el endotelio biliar,<sup>141</sup> siendo necesarios el desarrollo de estudio bien diseñados para dilucidarlo.

c. De resultados

i. ¿Existe una microangiopatía biliar?

La microangiopatía biliar es una entidad crónica e incurable que ha sido identificada tanto experimental como clínicamente y se asocia a importantes complicaciones biliares y que tiene asociadas una serie de implicaciones devastadoras en la calidad de vida del paciente y a elevados costes asociados.<sup>46-48</sup> Esta circunstancia no solo puede observarse en pacientes sometidos a trasplante hepático, sino que puede aparecer en otras entidades clínicas tales como ciertos procesos gastrointestinales, oncológicos, paciente sometidos a cirugía abdominal, infusión de agentes quimioterápicos a través de la arteria hepática o tratamiento radioterápico, y en el manejo de pacientes con diagnóstico de SIDA u otros tipos de enfermedades sistémicas.

Desde hace más de 20 años, numerosos autores han descrito las estenosis biliares no anastomóticas en pacientes sometidos a trasplante hepático ortotópico,<sup>69, 142, 143</sup>

sugiriendo que esta complicación estaría íntimamente relacionada con el daño durante la preservación del injerto hepático, debido a un proceso isquémico.<sup>69, 144</sup> La patogénesis exacta de estas complicaciones biliares de tipo isquémico no es del todo conocida, pero parece compartido por la mayoría de autores que la lesión al plexo vascular peribiliar tendría un papel principal.<sup>55, 61, 145, 146</sup> Las lesiones vasculares sería debidas a un proceso lesional por hipoxia a nivel del endotelio vascular biliar provcando edema inicialmente, y que progresaría hacia arteriosonecrosis, al que seguiría una extravasación de eritrocitos a través de los capilares dañados, dando lugar a sangrado intramural. Por tanto, la patogenia de la microangiopatía biliar sería multifactorial, con un papel fundamente de la arteriolonecrosis que además se ha asociado con significación estadística con el desarrollo de estenosis biliares de tipo isquémico, tal y como ha sido acreditado en el estudio de muestras histológicas de vía biliar del donante durante el trasplante por varios autores,<sup>90, 116</sup> observando también otras lesiones como el sangrado intramural.<sup>90</sup> El daño producido al conjunto de la vascularización biliar, destacando la lesión de la microvascularización y la aparición de necrosis arteriolar constituirían por tanto condiciones imprescindibles para el desarrollo de estenosis biliares de tipo isquémico, confirmando de este modo la existencia de una microangiopatía biliar fundamental en la patogénesis de este tipo de complicaciones biliares.<sup>61, 69, 143</sup>

## ii. ¿Existe una vía biliar con criterios expandidos?

Según lo analizado en los apartados previos, la colangiopatía isquémica estaría asociada a una etiología de origen multifactorial,<sup>60, 147</sup> en la que estarían implicados diferentes factores de riesgo o mecanismos patogénicos con diferente peso en este proceso, siendo los mecanismos lesivos de la vía biliar identificados con mayor relevancia la lesión por isquemia-reperfusión, la lesión mediada por el sistema inmunológico y las sales biliares



hidrofóbicas. Por tanto, la identificación de ciertas variables durante la fase de preservación del órgano y previo al implante, haría posible señalar donantes con “vías biliares de riesgo” o “vías biliares con criterios expandidos” que se asociaría a una mayor tasa de complicaciones biliares, y que podrían modificar ciertos aspectos de la técnica quirúrgica como el tipo de reconstrucción biliar, con la finalidad de reducir el impacto de la suma de factores de riesgo implicados en complicaciones biliares de tipo isquémico. A continuación se enumeran las variables estudiadas hasta el momento y acreditadas por diferentes autores que definirían una “vía biliar de riesgo”:

- Donantes con criterios expandidos.<sup>54, 147</sup>
- Donantes en asistolia.<sup>69, 104, 105</sup>
- Edad en el donante.<sup>54</sup>
- IMC superior a 25 kg/m<sup>2</sup> en el donante.<sup>121</sup>
- Tiempo de isquemia fría superior a 13 horas.<sup>60, 69</sup>
- Soluciones de preservación de mayor viscosidad (Solución de Wisconsin).<sup>56, 113</sup>
- Reperusión portal seguida de la perfusión arterial o la reperusión retrograda a través de vena cava que alargarían los tiempos de isquemia caliente.<sup>127, 128</sup>
- Lesiones denominadas “relevantes” del epitelio biliar según el score histológico desarrollado por Brunner et al<sup>108</sup> en la biopsia tomada tras el periodo de preservación en frío del órgano.
- Lesión en el estroma mural, en el plexo vascular peribiliar y presencia de sangrado intramural en la biopsia tomada previa a la reconstrucción biliar según el score de Hansen et al.<sup>90</sup>

- Pérdida de células epiteliales de las glándulas peribiliares profundas, lesión del plexo vascular peribiliar y necrosis mural estromal durante la preservación fría del injerto según el score de S. Op den Dries et al.<sup>91</sup>
- Recurrencia precoz de la infección por VHC.<sup>122</sup>
- Infección primaria por CMV.<sup>134, 135</sup>

### iii. Limitaciones del estudio

Nuestra hipótesis y el objetivo inicial que pretendíamos desarrollar se trataba de un proyecto sólido con la intención de responder a un problema clínico que no encuentra solución en la era moderna del trasplante hepático. Así mismo, con la cada vez mayor presencia de donantes con criterios expandidos, las complicaciones biliares están aumentando, y sería de gran utilidad obtener parámetros objetivos que nos permitan identificar vías biliares de riesgo para así intentar mejorar el aspecto técnico de la realización de la anastomosis biliar. Inevitablemente, existen limitaciones inherentes a nuestro proyecto de investigación probablemente la mayor esté asociada a la gran cantidad de variables que pueden influir en la viabilidad y oxigenación de la vía biliar en el contexto del trasplante hepático. Para ello, planteamos un estudio piloto con un número aproximado de 20-25 pacientes, que consideramos sería suficiente al tratarse de un estudio pionero sobre la vía biliar del trasplante hepático hasta la actualidad. Sería deseable la ampliación de este trabajo a una cohorte de en torno a 100 pacientes que nos permita realizar análisis de estos subgrupos de pacientes que aglutinen ciertos factores (como la sección de la arteria gastroduodenal) que podrían influir sobre la calidad microvascular de la vía biliar y su microoxigenación. Además, ampliando el número de pacientes analizados, podríamos llevar a cabo modelos multivariantes difíciles de realizar con 23 pacientes incluidos. Otra limitación del estudio sería el relativo elevado

coste del instrumental, cada sonda tiene un coste aproximado de 300€ y el dispositivo en torno a los 40000€ (sin embargo, las sondas pueden ser esterilizadas y usadas en diferentes ocasiones, con una vida media de 3 meses, reduciendo así el impacto económico). Un estudio económico de coste-beneficio sería interesante, pues aunque el dispositivo tiene un elevado coste, una vez se adquiere solo es necesario renovar cada cierto tiempo las sondas, y lo que tendríamos difícil para cuantificar serían los costes que podrían haberse evitado (ingreso prolongado, procedimientos radiológicos o endoscópicos) derivados de complicaciones biliares que no lleguen a producirse al realizar la anastomosis biliar guiados por los datos de microoxigenación obtenidos durante el sondaje intraoperatorio.

Así mismo, el análisis con las nuevas mediciones de presión parcial de oxígeno tisular, si bien novedoso, no fue sencillo, y requirió adaptarse a un aparataje y tecnología desconocida. Afortunadamente, pudimos nutrirnos de la amplia experiencia de esta tecnología usada con numerosos fines en otros campos de la medicina, accediendo a multitud de trabajos publicados con exitosos resultados, que certifican que se trata de una herramienta segura in vivo, con resultados reproducibles y comparables. Con la intención de dominar el funcionamiento del dispositivo de medición de microtensión tisular de oxígeno, y seleccionar la sonda más apropiada de entre las disponibles para tal fin, tuvimos la oportunidad de hacer tests durante 3 semanas previas al inicio del estudio para adaptarnos al aparataje y sistema informático. con el que desde las primeras pruebas obtuvimos resultados sorprendentes por la fácil sistematización del procedimiento durante el trasplante, con escasa exigencia de tiempo e ilusionantes resultados.

#### iv. Novedades del estudio

A pesar de las limitaciones, y considerando los puntos fuertes de nuestro estudio, con la cautela correspondiente, pensamos que hemos alcanzado la primera descripción de “vía biliar marginal”, de la misma forma que cuando se acuñó el término “higados marginales”. Numerosas conclusiones podrían ser obtenidas de nuestro estudio, entre ellas, que con la medición de la micropO<sub>2</sub> tisular podrían detectarse vías biliares de riesgo. También hemos demostrado el hecho de que la zonas de vía biliar proximales en el donante y distales en el receptor están mejor oxigenadas y por tanto, basándonos en estos hallazgos, es lógico pensar que la anastomosis biliar debería realizarse lo más cerca posible de la placa hiliar en el donante y en la vía biliar distal en el receptor. De acuerdo con nuestros resultados, podríamos sugerir que el conducto cístico debería resecarse en ambos bordes anastomóticos ya que distalmente al conducto cístico la oxigenación es significativamente peor, y estos datos han podido correlacionarse con hallazgos de histopatología biliar más desfavorable y con una mayor incidencia de complicaciones biliares.

Este estudio pionero que hemos llevado a cabo, podría ayudar a prevenir el desarrollo de complicaciones biliares anastomóticas por varias razones:

- En primer lugar, por ser el primer trabajo que consigue localizar las áreas de la vía biliar mejor vascularizada de una forma científica y objetiva.
- En segundo lugar, desde siempre se había pensado, pero no había podido ser probado, que el la resección del conducto cístico es adecuada para la anastomosis biliar. Con el análisis de nuestros resultados, hemos conseguido probar el hecho de que la resección del conducto cístico podría ser apropiado para asegurarnos una anastomosis mejor vascularizada.
- Por último, hemos demostrado que el dispositivo que hemos utilizado (Oxypro) para medir la microoxigenación tisular, que ya ha reportado

resultados extraordinarios en otros campos de la medicina, sería una potencial herramienta para uso intraoperatorio que aportaría datos sobre la calidad microvascular de la vía biliar, pudiendo así, modificar la decisión de la localización en donante y receptor de la anastomosis biliar, seleccionando las áreas con adecuadamente oxigenadas.

#### v. Perspectivas de futuro.

Los resultados que presentamos son los de un estudio piloto que se integra en un proyecto mucho más ambicioso, que incluirá en torno a las 120-150 pacientes que nos permita realizar análisis de subgrupos de pacientes que podrías influir sobre la calidad microvascular de la vía biliar y su microoxigenación, desarrollando modelos multivariantes que consigan aislar variables significativas en donante y receptor que influyan en la vascularización biliar y eliminar posibles factores de confusión del análisis.

Bajo nuestra visión el dispositivo estudiado es la única herramienta que actualmente nos permite obtener datos intraoperatorios de la microvascularización en la vía biliar de donante y receptor de una forma no invasiva, y que puede ayudar en la decisión de qué áreas son las más apropiadas, desde el punto de vista de microoxigenación tisular, para realizar la anastomosis biliar. Con esta base, podríamos apoyar el hecho de que todos los grupos de trasplante se beneficiarían de contar con esta herramienta para la detección de vías biliares de riesgo, que podrían cambiar la decisión de la localización de la anastomosis biliar o incluso en caso de valores escesivamente bajos de micropO<sub>2</sub> tisular realizar otro tipo de anastomosis (hepaticoyeyunal) o colocar un tubo en T. Sin embargo debido a las limitaciones del estudio y a su coste, podríamos recomendar tras el análisis de nuestros resultados, que parece razonable resear el conducto cístico y

realizar la anastomosis biliar lo más alejada posible, es decir, en la proximidad de la placa hiliar en el donante y distal a la inserción del conducto cístico en el receptor, sin necesidad de utilizar el dispositivo.

Por otro lado, las mediciones de microoxigenación tisular podría ayudar a determinar el impacto real de ciertas variables en el donante y de la ligadura de la arteria gastroduodenal en la viabilidad de la vía biliar, que podría ser un campo de investigación potencial para el futuro, tanto para nuestro grupo como para otros grupos de trasplante.



## 7. CONCLUSIONES

1. La anastomosis biliar es un punto crítico del trasplante hepático y la microoximetría tisular puede ser útil para detectar vías biliares de riesgo.

***Biliary anastomosis is a critical point in liver transplantation and oxygen microtension tissue measurements may be useful to detect risky bile ducts.***

2. Por primera vez se demuestra que la microoxigenación biliar es mejor en la región proximal de la vía biliar en el donante y distal en la del receptor, por tanto, la anastomosis biliar debería realizarse en la proximidad de la placa hilar en el donante y en la vía biliar distal del receptor.

***For the first time, we have also anatomically showed evidence that proximal donor and distal recipient areas are better oxygenated and thus, biliary anastomosis should be performed as close as possible to donor hilar plate and recipient's distal duct.***

3. Existe una relación entre una menor cifra de PO<sub>2</sub> medida por microoximetría por debajo de la inserción del conducto cístico en la vía biliar del injerto. De acuerdo a nuestros resultado, podríamos sugerir que deberían resecarse el conducto cístico de ambos lados.

***There is a link between a lower measurements of PO<sub>2</sub> microtension below cystic duct insertion in the bile duct graft. According to our results, we could suggest that cystic duct in both sides should be resected as anastomosis excluding the cystic duct is significantly better oxygenated.***



4. Las vía biliares con histología patológica desfavorable, como la lesión en el estroma mural, deterioro del plexo vascular peribiliar y presencia de sangrado intramural asociado por otros autores a mayores tasas de complicaciones biliares de tipo isquémico, presentan una peor microoxigenación biliar medible y cuantificable.

*Bile duct with worse pathology findings, like mural stroma injury, peribiliary vascular plexus injury and intramural bleeding, are correlated by many authors with the development of ischemic biliary complications. Those bile ducts show worse microoxygenation values.*

5. Las determinaciones microoximétricas son significativamente inferiores en pacientes que presentaron complicaciones biliares en el seguimiento tras el trasplante hepático.

*All the microoxygenation pO<sub>2</sub> measurements are significantly lower in patients with post-transplant biliary complications.*



## 8. ÍNDICE DE COMUNICACIONES, PUBLICACIONES Y PREMIOS.

### A. Comunicaciones

- 1) Determinaciones “in vivo” de microtensión tisular de oxígeno y flujometría con micro-doppler como marcadores de viabilidad de la vía biliar en el trasplante hepático. Navarro Rodríguez E, Ciria Bru R, Medina Fernández FJ, Sánchez Frías M, Gallardo Herrera AB, Rufián Peña S, López Cillero P, Briceño Delgado J. Congreso Nacional de Cirugía de la Asociación Española de Cirujanos (10-13 de Noviembre de 2014, Madrid, España).



- 2) Determinaciones “in vivo” de microtensión tisular de oxígeno como marcador de viabilidad de la vía biliar en el trasplante hepático.

Navarro Rodríguez E, Ciria Bru R, Medina Fernández FJ, Sánchez Frías M, Gallardo Herrera AB, Rufián Peña S, López Cillero P, Briceño Delgado J. IX Congreso de la SATOT (7-9 de Junio de 2015, Córdoba, España).

The image displays the cover and agenda of the IX Congreso de la SATOT Córdoba 2015. The cover (left) features the title 'IX CONGRESO SATOT CORDOBA' in large, stylized letters, with 'BA' at the bottom. It includes the dates '7-9 JUNIO 2015' and the location 'HOTEL CORDOBA CENTER'. The agenda (right) is for 'LUNES 8 JUNIO' and lists three sessions: 01-4 / 15, 01-5 / 38, and 01-6 / 44. Each session has a title, a list of speakers, and a moderator. The agenda page is numbered 15 at the bottom.

**IX CONGRESO SATOT CORDOBA**

7-9 JUNIO 2015  
HOTEL CORDOBA  
CENTER

Programa definitivo

**LUNES 8 JUNIO**

01-4 / 15

**DETERMINACIONES "IN VIVO" DE MICROTENSION TISULAR DE OXIGENO COMO MARCADOR DE VIABILIDAD DE LA VIA BILIAR EN EL TRASPLANTE HEPATICO.**

Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba.

Navarro Rodríguez, Elena; Medina Fernández, Javier; Gallardo Herrera, Ana Belén; Ciria Bru, Rubén; Sánchez Frías, Marina; Aylón Terán, María Dolores; Rufián Peña, Sebastián; López Cillero, Pedro; Briceño Delgado, Javier.

01-5 / 38

**DONANTE EN ASISTOLIA (MAASTRICHT III): EXPERIENCIA PRELIMINAR EN MÁLAGA.**

Hospitales Universitarios Regional y Virgen de la Victoria, Málaga.

Sánchez Pérez, Belinda; Cabañero Muñoz, Daniel; Fernández Aguilar, José Luis; Pérez Daga, Antonio; Aranda Narváez, José Manuel; Montiel Casado, Custodia; León Díaz, Francisco Javier; Pitarich Martínez, María; Gámez Córdoba, Esther; Santoyo Santoyo, Julio.

01-6 / 44

**ANÁLISIS PRELIMINAR DE DOS PROTOCOLOS DE PROFILAXIS TROMBOEMBÓLICA EN EL TRASPLANTE DE PÁNCREAS.**

Hospitales Universitarios Regional y Virgen de la Victoria, Málaga.

Montiel Casado, María Custodia; Pérez Daga, José Antonio; Aranda Narváez, José Manuel; Ruiz Esteban, Pedro; Cabello Díaz, Mercedes; Sánchez Pérez, Belinda; León Díaz, Francisco Javier; Burgos Rodríguez, Dolores; Hernández Marrero, Domingo; Santoyo Santoyo, Julio.

01-7 / 102

**REINICIO DE HEMODIÁLISIS TRAS EL FRACASO DEL INJERTO RENAL. COMPARACIÓN CON PACIENTES NO TRASPLANTADOS.**

Hospital Universitario Reina Sofia, Córdoba (1); Hospital La Lirios de la Concepción, Cádiz (2); Moyano Peregrín, Cayetana (2); Soriano Cabrera, Sagrario (1); Aguilera Morales, María Luisa (1); Rodríguez Benoit, Alberto (1); Martín Malo, Alejandro (1); Aljama García, Pedro (1).

15

3) Determinaciones “in vivo” de microtensión tisular de oxígeno como marcador de viabilidad de la vía biliar en el trasplante hepático.

Navarro Rodríguez E, Ciria Bru R, Medina Fernández FJ, Sánchez Frías M, Gallardo Herrera AB, Rufián Peña S, López Cillero P, Briceño Delgado J. Congreso de la Sociedad Española de Trasplante Hepático (7-9 de octubre de 2015, Málaga, España).



#### Programa científico

##### O-30

#### Determinaciones “in vivo” de microtensión tisular de oxígeno y flujo métrica con micro-doppler como marcadores de viabilidad de la vía biliar en el trasplante hepático

E Navarro Rodríguez, R Ciria Bru, M Sánchez Frías, FJ Medina Fernández, AB Gallardo Herrera, MD Aylón Terán, S Rufián Peña, P López Cillero, J Briceño Delgado  
Servicio Cirugía General y del Aparato Digestivo, HU Reina Sofía, Córdoba

##### O-31

#### Como afectan las variables del donante en el aislamiento de hepatocitos humanos primarios a partir de resecciones hepáticas

E Martínez (1), E Solerías (2), N Sánchez (3), A Serrablo (3), A García-Gil (4), A Luá (1), G García (1), S Lomera (1), MT Serrano (1)  
(1) Servicio de Aparato Digestivo - Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Clínico Universitario Lozano Blos, Zaragoza, (2) Instituto Investigación Sanitaria de Aragón, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, (3) Servicio de Cirugía Hepatobiliar, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, (4) Servicio de Cirugía Hepatobiliar - Unidad de Trasplante Hepático, Hospital Clínico Universitario Lozano Blos, Zaragoza

##### O-32

#### Valoración onco-hematológica pretrasplante mediante biopsia líquida (CTCs), TAC-PET y marcadores tumorales de pacientes con hepatocarcinoma

P Ramírez Romero (1), LF Sáenz Mateos (2), V De la Orden García (3), P Cascales Campos (1), MR González Sánchez (1), E Enk (1), J Navarro Fernández (1), JA Poma Mirano (1), A Capel (1), A Riva Zambodini (1), R Roldán (1), F Sánchez Bueno (1), E Díez-Rubio García (4), JA Noguera Velasco (2), P Parrilla Paeiro (1)  
(1) Cirugía General/Trasplante y Cirugía Hepatobiliopancreática, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca, (2) Palma de Murcia, (3) Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca-MIB, (4) Palma de Murcia, (5) Unidad de Genética del Servicio de Oncología Médica, Hospital Clínico San Carlos-IBS, Madrid, (6) Servicio de Oncología Médica, Hospital Clínico San Carlos, Madrid

##### O-33

#### Descripción de un sistema de perfusión normotérmica con control totalmente autónomo en un modelo de hígado porcino

A Morales Taboada (1), J Asencio Pascual (1), L Guillón (2), P Lozano Lomínchar (1), J Gutiérrez (3), R Sánchez (3), JC Carazo (4), A García Sabido (1), J López Sierra (1)  
(1) Cirugía general II, sección trasplante hepático, HGUJM, (2) Cirugía experimental, Departamento de Biogerencia HGUJM, (3) Facultad de medicina, Universidad Complutense de Madrid, (4) Departamento de Cirugía experimental HGUJM Madrid

##### 13.45-14.00h

#### ENTREGA DE BECAS Y PREMIOS DE LA SETH

##### 14.00-14.05h

#### CLAUSURA

www.sethepatico.org

27

- 4) Real-time measurements of tissue oxygen microtension as a marker of bile duct viability in liver transplantation.

R. Ciria-Bru, E. Navarro Rodríguez, M. Sanchez-Frias, J. Medina-Fernandez, A. Gallardo-Herrera, M. Ayllon-Teran, S. Rufian-Peña, P. Lopez-Cillero, J. Briceño-Delgado. American Transplant Congress (2-6 de Mayo de 2015, Philadelphia, EEUU).

	<div><p>Real-Time Measurements of Tissue Oxygen Microtension as a Marker of Bile Duct Viability in Liver Transplantation - ATC Abstracts 5/7/15 15:15</p><div><p>Reconstruction in Liver Transplantation for Primary Sclerosing Cholangitis is Associated with Less Biliary Complications, Compared with Roux-en-Y Hepatico-Jejunostomy</p><p>Methods: Observational prospective cohort study with 18 patients included from November 2013 to September 2014. Tissue oxygen microtension measurements were made using Oxylite device in different areas of recipient and donor's bile duct intraoperatively after biliary anastomosis was made. Bile duct and hepatic artery biopsies were taken from donor and recipient.</p><p>Results: A total of 18 patients underwent liver transplantation with a median age of 53 years old (44-60) and MELD of 18. Mean oxygen microtension value in the graft bile duct at anastomosis level was 106 (92-118) mmHg, being 125 (108-134) mmHg 1.5 cm proximal to the hilar plate. Mean micro-oxygenation value in the bile duct recipient was 117 (100-150) mmHg, whilst a value of 138 (119-183) mmHg was observed 1.5 cms distal to the anastomosis. Tissue oxygen microtension was statistically higher in distal areas to section border of the biliary anastomosis, with an overall pO<sub>2</sub> increase distal to the anastomosis of 17.9 mmHg (p&lt;0,001) and 21.6 mmHg (p&lt;0,001) in the graft and recipient, respectively. Biliary anastomosis was performed above the cystic duct insertion in the donor bile duct in 10 patients, with significant higher values of pO<sub>2</sub> microtension (p=0.017). Histological injury grade 2-3 in biliary mural stroma and grade 1-3 in peribiliary vascular plexus of graft's bile duct graft were associated with lower tissue oxygen pressure, as well as injury grade 2 in biliary epithelium and grade 1-3 in peribiliary vascular plexus of recipient's bile duct were associated with lower micro-oxygenation (p&lt;0,05).</p><p>Conclusions: Our results demonstrates that terminal border of donor and recipient bile duct are low-vascularized areas. Tissue microoxygenation improves significantly in areas close to the hilar plate and to the duodenum in the donor and recipient's sides, respectively. Histopathological findings of bile duct injury are associated to worst tissue microoxygenation.</p><div><div>Tweet 0</div><div>Share 0</div><div>Share</div><div>Email</div><div>Print</div></div><p>To cite this abstract in AMA style:</p><p>Ciria-bru R, Navarro-Rodriguez E, Sanchez-FriasJ, Medina-Fernandez J, Gallardo-Herrera A, Ayllon-Teran M, Rufán-Peña S, Lopez-Cillero P, Briceño-Delgado J. Real-Time Measurements of Tissue Oxygen Microtension as a Marker of Bile Duct Viability in Liver Transplantation [abstract]. <i>Am J Transplant</i>. 2015; 15 (suppl 3). <a href="http://www.atcmeetingabstracts.com/abstract/real-time-measurements-of-tissue-oxygen-microtension-as-a-marker-of-bile-duct-viability-in-liver-transplantation/">http://www.atcmeetingabstracts.com/abstract/real-time-measurements-of-tissue-oxygen-microtension-as-a-marker-of-bile-duct-viability-in-liver-transplantation/</a>. Accessed May 1, 2015.</p></div></div>
--	--

5) PREMIADA COMO MEJOR COMUNICACIÓN ORAL (YOUNG INVESTIGATOR AWARD) Real-time measurements of tissue oxygen microtension as a marker of bile duct viability in liver transplantation.

Ruben Ciria, Elena Navarro, Ana Belen Gallardo, Javier Medina, Marina Sánchez-Frías, María Dolores Ayllón, Sebastian Rufian, Pedro Lopez-Cillero, Javier Briceño. International Liver Transplantation Society (8-11 de Julio de 2015, Chicago, EEUU).



<p><b>5:45 PM</b> <b>Assessment of Ischemic, Inflammatory and Apoptotic Damage With Hypoechoic Machine Perfusion in Human Liver Transplantation (Abstract # O-42)</b> Saito Hiroyuki, Suganuma Shintaro, Ben Arington, Tetsuro Kato, Jose C. Escamez, James V. Chavers, New York, NY, USA</p> <p><b>5:52 PM</b> <b>Liver Rejection With Renal Dysfunction: Liver Only OR Simultaneous Liver-Kidney Transplant? (Abstract # O-43)</b> Kamal Taha, Kaitum Majumder, William Payne, Raj Kandaswamy, Timothy Pratt, Shihab Chinnakula, Minneapolis, MN, USA</p> <p><b>6:05 PM</b> <b>Impact of Life Criteria on the Management of Patients With Metastatic Liver Disease in French Liver Transplantation Programs: Results of a Nationwide Online Questionnaire (Abstract # O-44)</b> Olivier Chazot, Antoine Teras, Dominique Serres, Etienne Sébastien, Nadia Farouk, Mehdi Philippe, Damien Christophe, Lyon, France, Vilpied, France, Lille, France, Coteau, France, France, France</p> <p><b>6:15 PM</b> <b>Mortality of Primary Biliary Cholangitis Patients on the Liver Transplantation Waiting List: A Computing Risk Analysis (Abstract # O-45)</b> Madelon Tefsen, Bettina E. Hansen, Bart van Herk, Aad P. van den Berg, Rob A. de Man, Harold J. Meuwissen, Rotterdam, Netherlands, Leiden, Netherlands, Groningen, Netherlands</p> <p><b>6:25 PM</b> <b>Key Donor Factors Associated with Risk of Graft Loss Among Human Immunodeficiency Virus (HIV) Infected Liver Transplant Graft Recipients (Abstract # O-46)</b> Johel Campos-Morales, Jennifer L. Dodge, Peter Stock, Nisha A. Tummala, Santiago de Compostela, Spain, San Francisco, USA</p> <p><b>6:35 PM</b> <b>Alpha-1 Antitrypsin Treatment Prevents Liver Graft Ischemia-Reperfusion Injury (Abstract # O-47)</b> C.J. Verbeeren, S. van der Wal, S. Demmeijer, Jan Engel, H.J. Meekelaar, J.N.M. Gijzen, R.W.F. de Boer, J. de Jong, L.M.M. de Laet, Rotterdam, Netherlands, Eindhoven, Eindhoven, PA, USA</p>	<p><b>5:52 PM</b> <b>Real-Time Measurements of Tissue Oxygen Microtension as a Marker of Bile Duct Viability in Liver Transplantation (Abstract # O-48)</b> Ruben Ciria, Elena Navarro, Ana Belen Gallardo, Javier Medina, Marina Sánchez-Frías, María Dolores Ayllón, Sebastian Rufian, Pedro Lopez-Cillero, Javier Briceño, Córdoba, Spain</p> <p><b>5:55 PM</b> <b>Transplanting Pediatric Livers Into Adult Patients Without Outcomes Only With Very Young Donors (Abstract # O-70)</b> Johel A. Campos-Morales, James C. Harris, Edie Y. Chan, Chicago, IL, USA</p> <p><b>5:45 PM</b> <b>Use of Octine 3D Volumetry for In-Situ Split-Liver Transplantation (Abstract # O-71)</b> Mehmet F. Karam, James W. Henderson, Joe Connolly, Art Cohen, Harshad Deshpande, John Seal, Emily Ahmed, David Brown, George E. Lonn, New Orleans, LA, USA</p> <p><b>5:55 PM</b> <b>Experience of 20 Consecutive Totally Laparoscopic Living Donor Right Hepatectomy for Adult L2/L3 (Abstract # O-72)</b> Chun-Hyuk David Kwon, Joe Won Juh, Jong Min Kim, Se Young Cho, Yoon Lee, Dong Hyun Shim, Suk-Koo Lee, Seoul, Korea</p> <p><b>6:05 PM</b> <b>The Correlation of Hepatic and Systemic Hemodynamics During Liver Transplantation: Quantification of Hepatic Resistance in Rat (Abstract # O-73)</b> Jin-Chul Jung, Yong-Wai Chen, Hui-Liang Fan, Chung-Shan Tseng, Taipei, Taiwan</p> <p><b>6:15 PM</b> <b>Acute-Rest Reoperation of Liver Grafts from Donors After Cardiac Death (DCD): Hemodynamic Profile and Post-Operative Outcomes (Abstract # O-74)</b> Jesse Salazar, Roberto Anguiano, Armin Iqbal, Chanté Bell, John Isaac, Frank Margenthal, Daria Motta, Thomas Pons, Paolo Malinas, Birmingham, United Kingdom</p> <p><b>6:25 PM</b> <b>In-Situ Split Liver Transplantation: Results of Full Left Grafts in Adults (Abstract # O-75)</b> G. Elmas, O. Cimen, A. Lemen, S. Sencelmez, O. Cimen, M. Gullu, M.A. Altun, C. Eren, D. Arslan, E. Vahar, R. Adan, D. Cengiz, D. Semiz, D. Cengiz, Vilpied, France</p> <p><b>6:35 PM</b> <b>Right Lobe Grafts with Triple Biliary Outlets: Think Twice (Abstract # O-76)</b> Mehmet Demirelli, Volkan Erdogmus, Seman Acar, Alper Altun, Arzu Ozturk, Nuhul Ozturk, Mehmet Aydinli, Onur Yagci, Yildirim Yazar, Yaman Tokat, Istanbul, Turkey</p>
--	--

**Concurrent Oral Abstract Session: Surgical Techniques/Complications**  
5:15 PM – 6:45 PM

*Room Location: Sheraton/Chicago Ballrooms 4-1, 4th Floor*  
Moderators: Roberto Hernandez-Alpizar, MD, BCT, FRCPC, Surgery, Western University, London, Ontario, Canada and G.L. Lee, PhD, Surgery, Asian Medical Center, Seoul, Republic of Korea

**5:15 PM** **Arterial Anastomosis To Recipient Left Hepatic Artery In Association With a Lower Incidence of Biliary Complications in L2/L3: Results of a Randomized Controlled Study (Abstract # O-40)**  
Shihui Jiang, Xuesi Guo, Qing Han, Mohammad Noori, Ravi Chari, Shihui Panick, Subodh Gupta, New Delhi, India

**Break**  
6:45 PM – 7:00 PM

**Vanguard Reception\***  
7:30 PM – 8:00 PM

*Room Location: Mayfield, 2nd Floor*  
\*By Invitation Only Age 42 and Under

6) Real-time measurements of tissue oxygen microtension as a marker of bile duct viability in liver transplantation.

Elena Navarro-Rodriguez, Ruben Ciria-Bru, Javier Medina-Fernandez, Ana Belen Gallardo-Herrera, Marina Sanchez-Frias, Maria Dolores Ayllon-Teran, Sebastian Rufian-Peña, Pedro Lopez-Cillero, Javier Briceño-Delgado.

European Society for Organ Transplantation (13-16 de Septiembre de 2015, Bruselas, Bélgica).



17<sup>th</sup> Congress of the European Society for Organ Transplantation  
**FROM THE HEART OF EUROPE TO  
THE WORLD OF TRANSPLANTATION**  
13-16 September 2015, Brussels, Belgium  
**Final Program**



**TUESDAY, 15 SEPTEMBER**

**SCIENTIFIC PROGRAM**

17.20 **O299**  
**BILIARY RECONSTRUCTION IN LIVER TRANSPLANT PATIENTS WITH PRIMARY SCLEROSIS CHOLANGITIS**  
Saeed Alkhalaf<sup>1</sup>, Alireza Shamsaei<sup>2</sup>, Mohammad Shafiei<sup>1</sup>, Nasrin Motavallian<sup>1</sup>, Seyed Ali Malek Hosseini<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Shiraz Organ Transplant Center; <sup>2</sup>Shiraz HIV/AIDS Research Center

17.30 **O300**  
**ISCHAEMIC CHOLANGIOPATHY IN DCD LIVER TRANSPLANTATION: RADIOLOGICAL FEATURES**  
Irene Scialoja<sup>1</sup>, Anna Murray<sup>1</sup>, Simon Olliff<sup>1</sup>, Brinder Mahon<sup>1</sup>, John Isaac<sup>1</sup>, Hynke Mergental<sup>1</sup>, Darius Mirza<sup>1</sup>, Thamar Perera<sup>1</sup>, Garret Rall<sup>1</sup>, Paolo Mulesan<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Queen Elizabeth Hospital; <sup>2</sup>Queen Elizabeth Hospital

17.40 **O301**  
**THE LENGTH OF PRE-ANASTOMOTIC COMMON HEPATIC DUCT IS A RISK FACTOR OF BILIARY COMPLICATIONS AFTER LIVER TRANSPLANTATION?**  
Roberto Montesi<sup>1</sup>, Federico Mochagiani<sup>1</sup>, Daniele Nicolini<sup>1</sup>, Andrea Vecchi<sup>1</sup>, Paolo Vincenzi<sup>1</sup>, Andrea Giovinetti<sup>1</sup>, Marco Vivarelli<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Chirurgia dei Trapianti - Ospedale Riuniti - Ancona; <sup>2</sup>Radiology - Ospedale Riuniti - Ancona

17.50 **O302**  
**SOMATOSTATIN INFUSION ALLOWS REVERSIBLE GRAFT FLOW'S AND PRESSURE GRADIENT MODULATION IN CLINICAL LIVER TRANSPLANTATION. RESULTS OF A RANDOMIZED, DOUBLE BLIND, PLACEBO CONTROLLED TRIAL**  
Haydar Salim Barakat<sup>1</sup>, Jurgan Van Lemmen<sup>2</sup>, Bjorn Hayes<sup>2</sup>, De Baerdemaeker Luc<sup>1</sup>, Isabel Colla<sup>1</sup>, Roberto Ivan Trais<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>HepB & Liver Transplantation Department, Tours University Hospital & Medical School; <sup>2</sup>Anesthesiology Department, Ghent University Hospital & Medical School; <sup>3</sup>Gastroenterology Department, Ghent University Hospital & Medical School; <sup>4</sup>General & HBS Surgery Department, Ghent University Hospital & Medical School

18.00 **O303**  
**THE CZECH EXPERIENCE WITH SPLIT LIVER TRANSPLANTATION INCLUDING FULL LEFT/FULL RIGHT: 2 YEARS OF THE PROGRAM, 15 SPLITS AND 30 TRANSPLANTS**  
Jiri Franc<sup>1</sup>, Libor Janousek<sup>1</sup>, Matej Kocik<sup>1</sup>, Milos Kucera<sup>1</sup>, Martin Oliverius<sup>1</sup>, Eva Kladichova<sup>1</sup>, Eva Pakoma<sup>1</sup>, Pavel Truneda  
<sup>1</sup>Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM) Prague

18.10 **O304**  
**REAL-TIME MEASUREMENTS OF TISSUE OXYGEN MICROTENSION AS A MARKER OF BILE DUCT VIABILITY IN LIVER TRANSPLANTATION**  
Elena Navarro-Rodriguez<sup>1</sup>, Ruben Ciria-Bru<sup>2</sup>, Javier Medina-Fernandez<sup>3</sup>, Ana Belen Gallardo-Herrera<sup>4</sup>, Marina Sanchez-Frias<sup>5</sup>, Maria Dolores Ayllon-Teran<sup>6</sup>, Sebastian Rufian-Peña<sup>7</sup>, Pedro Lopez-Cillero<sup>8</sup>, Javier Briceño-Delgado<sup>9</sup>  
<sup>1</sup>HU Reina Sofia; <sup>2</sup>HU Reina Sofia

18.20 **O296**  
**A CONSECUTIVE SERIES OF 100 CONTROLLED DCD-LIVER TRANSPLANTATIONS**  
Olivier Gauthier<sup>1</sup>, Amal Derouiche<sup>1</sup>, Hani Ledin<sup>1</sup>, Nicolas Meurisse<sup>1</sup>, Marie-Françoise Hans<sup>1</sup>, Jean Joris<sup>1</sup>, Severine Lauwrick<sup>1</sup>, Abdour Kaba<sup>1</sup>, Michel Meurisse<sup>1</sup>, Pierre Honoré<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Dept of Abdominal Surgery & Transplantation, University of Liege, CHU Liege; <sup>2</sup>Dept of Anaesthesiology, University of Liege, CHU Liege

150 | 17<sup>th</sup> Congress of the European Society for Organ Transplantation



## B. Publicaciones

### B.1. REAL-TIME MEASUREMENTS OF TISSUE OXYGEN MICROTENSION AS A MARKER OF BILE DUCT VIABILITY IN LIVER TRANSPLANTATION

---

**Autores:**

Navarro-Rodriguez, E.

**Ciria-Bru, R.**

Medina-Fernandez, J.

Gallardo-Herrera, A. B.

Ayllon-Teran, M. D.

Rufian-Pena, S.

Lopez-Cillero, P.

Briceno-Delgado, J.

Sanchez-Frias, M.

**Fuente:** *JOURNAL OF HEPATOLOGY*; APR 2015, 62 pS319-pS319, 1p.

Supplement: 2

**Publisher Copyright:** ELSEVIER SCIENCE BV

**ISSN:** 01688278

**Tipo de documento:** Journal

**Subject Category:** Gastroenterology & Hepatology

**Idioma:** English

**Número de acceso:**

000361967600276

**DOI:** 10.1016/S0168-8278(15)30277-4

[https://doi.org/10.1016/S0168-8278\(15\)30277-4](https://doi.org/10.1016/S0168-8278(15)30277-4)

**Rights:** Copyright 2015 Gale, Cengage Learning. All rights reserved.

COPYRIGHT 2015 Wiley Subscription Services, Inc.

JOURNAL IMPACT 2015: 10,59; SJR 4700 1ºCUARTIL (Q1)



SUPPLEMENT N°2 VOL. 62 2015

ELSEVIER

# JOURNAL OF HEPATOLOGY

50<sup>th</sup>

THE INTERNATIONAL  
LIVER CONGRESS™ 2015

50<sup>th</sup> Annual Meeting  
of the European Association  
for the Study of the Liver  
Vienna, Austria - April 22-26, 2015

 EASL | JOURNAL OF  
HEPATOLOGY

in 24.9% (98/393; group A 37.9%, group B 22.6%,  $p=0.003$ ). Overall multivariate analysis identified pre-OLT hyperglycemia and post-OLT weight gain as predictive risk factors for PTMS. However, independent risk factors were different in the two groups: post-OLT weight gain (OR 1.53, 95% CI 1.26–1.85,  $p=0.0001$ ) and post-OLT US liver steatosis (OR 4.12, 95% CI 1.48–11.4,  $p=0.006$ ) in group A; post-OLT weight gain (OR 1.36, 95% CI 1.17–1.57,  $p=0.0001$ ), pre-OLT hyperglycemia (OR 3.57, 95% CI 1.28–9.88,  $p=0.014$ ), macrovascular steatosis  $\geq 20\%$  in the allograft (OR 4.74, 95% CI 1.23–18.27,  $p=0.024$ ) and treatment with m-TOR inhibitors (OR 17.43, 95% CI 3.36–90.39,  $p=0.001$ ) in group B. Cardiovascular (CVD) events were reported in 2.7% (10/393; group A 4.2%, group B 1.8%,  $p=ns$ ). Overall 18.5% (73/393) died, 6.8% (5/73) for CVD (group A 2.1%, group B 0.9%,  $p=ns$ ).

**Conclusions:** Overall, host-related factors contribute to PTMS development, but the introduction of mTOR inhibitors is an additional risk factor particularly when suboptimal livers are transplanted.

#### EFFICACY OF THERAPEUTIC ERCP IN BILIARY COMPLICATIONS FOLLOWING LIVER TRANSPLANT: 10-YEARS EXPERIENCE

A.R. Alves<sup>1</sup>, D. Gomes<sup>1</sup>, S. Mendes<sup>1</sup>, N. Almeida<sup>1</sup>, R. Mesquita<sup>1</sup>, E. Camacho<sup>1</sup>, E. Furtado<sup>2</sup>, C. Sofia<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Gastroenterology Department, <sup>2</sup>Pediatric and Adult Liver Transplantation Unit, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal  
E-mail: alvessanarita@gmail.com

**Background and Aims:** Biliary tract complications following liver transplant remain an important source of morbidity and mortality. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) has become a common therapeutic option before other invasive procedures. The aim of this study was to evaluate ERCP efficacy in managing these complications.

**Methods:** It was performed a retrospective study of all patients submitted to therapeutic ERCP due to post-liver transplant biliary complications, between September 2004 and September 2014, in a predominantly deceased donor liver transplantation center.

**Results:** Therapeutic ERCP was performed in 120 patients (64.2% men; mean age at first ERCP of  $46.3 \pm 14.3$  years). Mean time between liver transplant and first ERCP was  $19.8 \pm 38.8$  months. Biliary complications were anastomotic strictures (AS) in 59.3%, non anastomotic strictures (NAS) in 14.1%, bile leaks in 5.9% and biliary filling defects (like stones or sludge) in 7.4%. Stents were placed in 61.7% patients, balloon dilation was performed in 62.5% and filling defects were removed in 29.5%. Each patient needed a mean of  $3.27 \pm 2.40$  ERCPs, performed during a period of  $18.7 \pm 19.3$  months. Mean follow-up was  $32.9 \pm 30.5$  months. Globally, biliary complications were successfully managed by ERCP in 43.3% of patients. Per complication, ERCP was successful in 41.2% of AS, 15.8% of NAS, 87.5% of leaks and 90.0% of lithiasis. One quarter of patients required a percutaneous or surgical intervention due to ERCP inefficacy. Diagnose of a bile leak ( $p=0.001$ ) or lithiasis ( $p=0.003$ ) was associated with higher chance of successful ERCP treatment, while the presence of a NAS was associated with unsuccessful ERCP ( $p=0.001$ ). No statistical difference was found for AS.

**Conclusions:** ERCP allowed resolution of a biliary complication in 43.3% of patients, avoiding a more invasive procedure. Endoscopic treatment is particularly efficient in patients with bile leaks, lithiasis and AS.

#### REAL-TIME MEASUREMENTS OF TISSUE OXYGEN MICROTENSION AS A MARKER OF BILE DUCT VIABILITY IN LIVER TRANSPLANTATION

E. Navarro-Rodríguez<sup>1</sup>, R. Ciria-Bru<sup>1</sup>, M. Sanchez-Frias<sup>2</sup>, J. Medina-Fernández<sup>3</sup>, A.B. Gallardo-Herrera<sup>1</sup>, M.D. Ayllon-Teran<sup>1</sup>, S. Rufán-Peña<sup>1</sup>, P. López-Cillero<sup>1</sup>, J. Briceño-Delgado<sup>1</sup>. <sup>1</sup>General Surgery, <sup>2</sup>Anatomic Pathology, HU Reina Sofía (Córdoba), Córdoba, Spain  
E-mail: helenanr1@hotmail.com

**Background and Aims:** The main aim was to evaluate bile duct viability by assessing its microvascular quality using an innovative real-time oxygen tension device by testing different areas in both donor and recipient's side. The findings were subsequently correlated with immunohistochemical and histopathological results. As a secondary aim, differences in bile duct micro-oxygenation status were analysed according to several donor, recipient and technical factors.

**Methods:** Observational prospective cohort study with 18 patients included from November 2013 to September 2014. Tissue oxygen microtension measurements were made using Oxylite® device in different areas of recipient and donor's bile duct intraoperatively after biliary anastomosis was made. Bile duct and hepatic artery biopsies were taken from donor and recipient.

**Results:** A total of 18 patients underwent liver transplantation with a median age of 53 years old (44–60) and MELD of 18 (17–26). Mean oxygen microtension value in the graft bile duct at anastomosis level was 106 (92–118) mmHg, being 125 (108–134) mmHg 1.5 cm proximal to the hilar plate. Mean micro-oxygenation value in the bile duct recipient was 117 (100–150) mmHg, whilst a value of 138 (119–183) mmHg was observed 1.5 cm distal to the anastomosis. Tissue oxygen microtension was statistically higher in distal areas to section border of the biliary anastomosis, with an overall pO<sub>2</sub> increase distal to the anastomosis of 17.94 mmHg ( $p<0.001$ ) and 21.61 mmHg ( $p<0.001$ ) in the graft and recipient, respectively. Biliary anastomosis was performed above the cystic duct insertion in the donor bile duct in 10 patients, with significant higher values of pO<sub>2</sub> microtension ( $p=0.017$ ). Histological injury grade 2–3 in biliary mural stroma and grade 1–3 in peribiliary vascular plexus of graft's bile duct graft were associated with lower tissue oxygen pressure, as well as injury grade 2 in biliary epithelium and grade 1–3 in peribiliary vascular plexus of recipient's bile duct were associated with lower micro-oxygenation ( $p<0.05$ ).

**Conclusions:** Biliary anastomosis is a critical point in liver transplantation. Our results demonstrates that terminal border of donor and recipient bile duct are low-vascularized areas. Tissue microoxygenation improves significantly in areas close to the hilar plate and to the duodenum in the donor and recipient's sides, respectively. Histopathological findings of bile duct injury are associated to worst tissue microoxygenation.

#### MICROINVASIVE INTRAOPERATIVE ULTRASOUND PATTERN IN PREDICTING OUTCOMES FOR SINGLE SMALL (<3 cm) HEPATOCELLULAR CARCINOMA

M. Costa<sup>1,2</sup>, R. Santambrogio<sup>1</sup>, M. Barabino<sup>1</sup>, M. Zuin<sup>1</sup>, E. Bertolini<sup>2</sup>, E. Opocher<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Chirurgia Epato-bilio-pancreatica e Digestiva, Ospedale San Paolo, Milano, Italy; <sup>2</sup>Hepato-bilio-pancreatique et Transplantation Hépatique, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France; <sup>3</sup>Medicina VI, Ospedale San Paolo, Milano, Italy  
E-mail: mara.costa@unimi.it

**Background and Aims:** The significance of tumor microinvasion (portal venous, hepatic vein, or bile duct infiltration and/or intra-hepatic metastasis, MI) in patients with single, small (<3 cm) hepatocellular carcinoma (HCC) remains unclear. Aim of the study was to evaluate MI impact (MI<sup>+</sup> vs MI<sup>-</sup>) on HCC recurrence and

## B.2. PRELIMINARY RESULTS FROM THE USE OF INTRAOPERATIVE REAL-TIME BILIARY OXYGEN MONITORING IN LIVER TRANSPLANTATION

### **Autores:**

Ruben Ciria

Elena Navarro

Marina Sánchez-Frías

Ana-Belen Gallardo

Javier Medina

María-Dolores Ayllón

Irene Gomez-Luque

Juan Ruiz-Rabelo

Antonio Luque

Manuel de la Mata

Sebastián Rufián

Pedro López-Cillero

Javier Briceño

Ruben Ciria and Elena Navarro have equally contributed to the development of the current research and article.

**Fuente:** Clinical Transplantation. 2018 Dec;32(12):e13433. Epub 2018 Dec 9.

**Tipo de documento:** Journal

**Subject Category:** Transplantation / Surgery

**Idioma:** English

**DOI:** doi: 10.1111/ctr.13433.


### **Funding information:**

The current research has been supported by a public grant from the "Fundación Progreso y Salud. Consejería de Salud. Junta de Andalucía", PI-0543/2012.

Impact factor:1.667

ISI Journal Citation Reports Ranking: 2018:113/203 (Surgery)17/25 (Transplantation)

## Preliminary results from the use of intraoperative real-time biliary oxygen monitoring in liver transplantation

Ruben Ciria<sup>1</sup>  | Elena Navarro<sup>1</sup> | Marina Sánchez-Frías<sup>2</sup> | Ana-Belen Gallardo<sup>1</sup> | Javier Medina<sup>1</sup> | María-Dolores Ayllón<sup>1</sup> | Irene Gomez-Luque<sup>1</sup> | Juan Ruiz-Rabelo<sup>1</sup> | Antonio Luque<sup>1</sup> | Manuel de la Mata<sup>3</sup> | Sebastián Rufián<sup>1</sup> | Pedro López-Cillero<sup>1</sup> | Javier Briceño<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unit of Hepatobiliary Surgery and Liver Transplantation, University Hospital Reina Sofía, IMIBIC, Ciber-EHD, University of Córdoba, Córdoba, Spain

<sup>2</sup>Unit of Pathology, University Hospital Reina Sofía, Córdoba, Spain

<sup>3</sup>Liver Research Unit, University Hospital Reina Sofía, IMIBIC, Ciber-EHD, Córdoba, Spain

### Correspondence

Ruben Ciria, Unit of HBP Surgery and Liver Transplantation, University Hospital Reina Sofía, Córdoba, Spain.  
Emails: rubenciria@gmail.com; rubenciria@hotmail.com

### Funding information

The current research has been supported by a public grant from the "Fundación Progreso y Salud. Consejería de Salud. Junta de Andalucía", PI-0543/2012.

### Abstract

**Background and aims:** Biliary anastomosis is a frequent area of complications after liver transplantation (LT) and a potential area of "microangiopathy". The concept of a "marginal bile duct" is unexplored. The main aim was to make a preliminary evaluation of the utility of an innovative real-time oxygen microtension (pO<sub>2</sub>mt) testing device for the assessment of bile duct viability during LT and to correlate these pO<sub>2</sub>mt values with microvascular tissue quality by histopathology and outcomes.

**Patients and methods:** Observational prospective cohort study with 23 patients. Oxygen microtension measurements were made placing a micropO<sub>2</sub> probe in different areas of recipient and donor's bile duct intraoperative.

**Results:** Mean pO<sub>2</sub>mt in the graft bile duct at the level of the anastomosis 103.82 (31-157) mm Hg, being 121.52 (55-174) mm Hg 1.5 cm proximal to the hilar plate ( $P < 0.001$ ). Mean pO<sub>2</sub>mt in the recipient's bile duct was 117.87 (62-185) mm Hg, while a value of 137.30 (81-198) mm Hg was observed 1.5 cm distal to the anastomosis ( $P < 0.001$ ). Cystic duct resection (12 cases) was also related with higher pO<sub>2</sub>mt values at anastomosis [117.8 (93-157) vs 88.54 (31-124) mm Hg] and distal to anastomosis [135.6 (111-174) vs 106.2 (55-133) mm Hg;  $P < 0.001$ ]. Patients with 1-, 3-, and 12-month biliary complications had significantly lower pO<sub>2</sub>mt in the intraoperative measurements.

**Conclusion:** Our preliminary results show that distal borders of donor and recipient bile ducts may be low-vascularized areas. Tissue pO<sub>2</sub>mt is significantly higher in areas close to the hilar plate and to the duodenum in donor and recipient's sides, respectively. Bile duct injury and biliary complications are associated with worse tissue pO<sub>2</sub>mt.

### KEYWORDS

biliary complications, liver transplantation, microangiopathy, microoxygenation

Ruben Ciria and Elena Navarro have equally contributed to the development of the current research and article.



## 1 | INTRODUCTION

The anatomical description of the arterial supply of the extrahepatic bile ducts has been controversial. While some groups advocated for a terminal vascularization,<sup>1</sup> others proposed the presence of a rich arterial network around the duct.<sup>2,3</sup> The pattern of longitudinal arteries in the middle portion of the common bile duct is sparse; in addition, this portion receives a low proportion of arterial supply compared with other areas, resulting in a comparatively poor blood supply. Basically, it is formed by a longitudinal chain pattern with long, very narrow marginal arteries, making this part of the duct system vulnerable to ischemia.

Some risk factors have been reported to be associated with the development of both anastomotic leaks and strictures after liver transplantation (LT). Inadequate surgical technique, arterial complications or local ischemia of the donor bile duct, the type of biliary reconstruction, and the type of liver graft (partial vs whole LT) are the major ones.<sup>4,5</sup> Donor factors, as well as the use of an external or internal drainage, are still under debate. The concept of extended criteria liver grafts is widely accepted by transplant teams.<sup>6</sup> Their mechanisms of ischemia-reperfusion injury and histological changes have been properly studied and there is an increasing knowledge about how to deal with the complications associated with them.<sup>7</sup> However, the concept of an "extended criteria bile duct" is still unproven and has not been reported.

There are several devices used in the field of LT that help us decide if a vascular anastomosis is working well (flow-meter, for example). However, no one has been specifically used for the real-time testing of the proper microvascularization of the bile duct. The main aim of our study was to test "in situ" the oxygenation status in different areas of the bile duct during LT using micro-oximeters already tested in other fields of surgery and oncology.<sup>8-11</sup> As secondary aims, we tried to identify if ducts with impaired microvascularization could be defined with a new concept of "marginal bile ducts"; and finally, we also tried to correlate these findings with histological findings, potential variables of extended criteria donors, and the development of post-transplant biliary complications.

## 2 | METHODS

### 2.1 | Patient selection and exclusion criteria

The inclusion in the study was offered to all candidates for LT from November 2013 to February 2015. Exclusion criteria were pediatric LT, recipients of a partial graft, re-transplantation, recipients of a liver from a donor after cardiac death, and patients in which hepatico-jejunostomy would be performed (primary sclerosing cholangitis, Caroli's disease). The current research was approved by the Ethical Committee at the University Hospital Reina Sofia (May-2012) and funded by Fundación Progreso y Salud (PI-0543/2012). Some of the products used in our research are still investigational, and thus, specific ethics issues were assessed

and approved by our ethical committee. Written consent was obtained from all patients. No preregistration exists for the reported studies reported in this article.

### 2.2 | Technique of LT

In our hospital, the common procedure for LT is the orthotopic placement of the graft with piggy-back maneuver. Temporary portacaval shunt was performed in all cases. After portal reperfusion, arterial anastomosis is performed with interrupted polypropylene suture in an end-to-end fashion. Decision of gastroduodenal artery (GDA) preservation is surgeon-driven according to individual selection.

### 2.3 | Technique of biliary anastomosis

After arterial reperfusion, cholecystectomy was performed and dissection of both donor and recipient bile ducts was carried out. The main three surgeons (JB; PLC; and SR) decided the place in which bile duct stumps would be anastomosed. The donor and recipient's bile duct stumps were sharply cut with scissors and bleeding control of the marginal vessels was performed using a single polypropylene 6/0 stitch. At that moment, the leading surgeons left the operating room and a different surgeon (RC) performed the bile duct anastomosis in an end-to-end fashion without changing the place of the anastomosis decided by the leading surgeons in any case. Biliary anastomosis was performed with interrupted single layer PDS 6/0 stitches in all cases. The decision of removing or not the cystic duct from the graft depends on leading surgeon's preferences with only three surgical exceptions, in which cystic duct is always preserved: first, the presence of an aberrant bile duct to segment 6 arising from the cystic duct; second, the high insertion of the cystic duct into the common bile duct or into the right bile duct; and third, the long placement of the cystic duct parallel to the common bile duct, what would lead to devascularization of the bile duct. T-tube was not used in any of the 23 cases.

### 2.4 | Measuring tissue microoxygenation

To test real-time oxygen microtension (pO<sub>2</sub>mt) of the bile duct, we used the OxyLite™ monitors (Oxford Optronix Ltd., Abingdon, UK) together with specific probes. The fluorescence-based technique employed by these oxygen monitors provides an absolute measurement of dissolved oxygen in mm Hg or kPa, providing a direct read-out of the balance between oxygen supply and oxygen consumption. This contrasts to blood oxygen saturation assessment (pulse oximetry), which merely describes the hemoglobin oxygenation status. The oxygen sensors are based on fluorescence quenching and fiber-optic technology. Short pulses of LED light are transmitted along the fiber-optic sensor to excite a platinum-based fluorophore bonded to the sensor tip. The resulting emission of fluorescent light, quenched by the presence of oxygen molecules is detected by the instrument. The instrument measures the lifetime of fluorescence, which is inversely proportional to the concentration of dissolved oxygen and

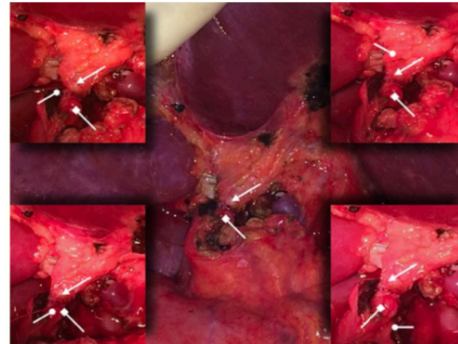
is interpreted to provide an absolute value for oxygen in mm Hg or kPa. All oxygen microsensors are constructed from optical fibers with an outside diameter of 230  $\mu\text{m}$ . The sensors that we used had a minimally invasive "bare-fiber" format (with integrated temperature sensor) and a tip diameter of 350  $\mu\text{m}$ . Fluorescence-based oxygen sensing shows a small degree of sensitivity to temperature changes. For optimal accuracy, we used sensor with integrated temperature detectors and monitors with continuous temperature input (provided by the thermocouple) to automatically compensate the oxygen measurement.

## 2.5 | Probes sterilization protocols

Ethylene oxide sterilization process was the chosen method for the probes. The sterilization protocol was reviewed and approved by Ethical Committee at the University Hospital Reina Sofia (May-2012).

## 2.6 | Intraoperative monitoring of bile duct oxygenation

To avoid any intervention and to make this research just an observational procedure, no oxygenation measurement was performed prior to the completion of the bile duct anastomosis. Besides, oxygenation values were blinded to the three leading surgeons so no re-anastomoses were performed. The microoxygenation probes were placed in both donor and recipient's bile ducts immediately after the anastomosis and 1-1.5 cm above and below, respectively. The placement of the probe is done with a gentle pressure trying to make the tissue surrounding the bile duct cover the tip of the fiber sensor (Figure 1). Immediately after the positioning, the pO<sub>2</sub>mt measurement was recorded in the monitor. Basal pO<sub>2</sub>mt with the probe unplaced is around 152 mm Hg. After positioning the probe in the tissue, there usually happens a drop that, after a few second, rises, reaching up to a stable value. We waited until a stable value was observed for, at least, 15 seconds to finally choose it as the pO<sub>2</sub>mt of that area (Video S1 and Video S2).



**FIGURE 1** Placement of the probes for bile duct oxygen determinations. For bile duct "in-vivo" measurements of pO<sub>2</sub> microtension (pO<sub>2</sub>mt), we decide to use "bare-fiber" format (with integrated temperature sensor), and a tip diameter of 350  $\mu\text{m}$ . The probe is gently pushed against the tissue in both donor (above) and recipient's (below) sides after performing the anastomosis at the level of the anastomosis (left) and 1-1.5 cm above and below the anastomosis (right) at donor and recipient's sides, respectively. Pointed arrow: donor bile duct/Squared arrow: recipient bile duct/Rounded arrow: place where the probe is placed in the 4 consecutive measurements (2 in the donor-above; 2 in the recipient-below).

## 2.7 | Biopsies

To proceed with the histological analysis and correlate with donor, recipient and transplant variables, biopsies were obtained from both donor and recipient's bile ducts and arteries. A sharp biopsy was obtained from the edges of donor and recipient bile duct prior to the anastomosis. The arterial stump as close as possible to the arterial anastomosis, from donor and recipient, was the place chosen for the biopsies with in order to evaluate the grade of atherosclerosis. Biopsies were all analyzed in a blinded fashion by an expert liver pathologist (M.S-F.) as follows:

**TABLE 1** Hansen classification<sup>15</sup> modified by Op den Dries<sup>16</sup> of biliary damage

Bile duct wall component	Injury score			
	Grade 0	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Biliary epithelium	No loss	≤50% loss	>50% loss	na
Mural stroma	No injury	≤25% necrotic	25%-50% necrotic	>50% necrotic
Peribiliary vascular plexus	No injury	≤50% of vessels with changes	>50% of vessels with changes	Grade 2 + arteriolonecrosis
Thrombosis	Absent	Present	na	na
Intramural bleeding	None	≤50% of duct wall	>50% of duct wall	na
Periluminal PBG	No injury	≤50% loss of cells	>50% loss of cells	na
Deep PBG	No injury	≤50% loss of cells	>50% loss of cells	na
Inflammation	None	At least 10 leukocytes/HPF	At least 50 leukocytes/HPF	na

PBG, peribiliary gland; HPF, high power field; na, not applicable.



### 2.7.1 | Arterial biopsy

The vessels were fixed in 10% buffered formalin solution. Sections were stained with hematoxylin and eosin, or Masson's trichrome stains for microscopic histology. Atherosclerotic lesions were microscopically classified according to the modified American Heart Association (AHA) classification<sup>12,13</sup> as follows: 0 = no foam cells; 1 = single isolated foam cells; 2 = multiple foam cells (>2 layers); 3 = pools of extracellular lipid (few or no cholesterol crystals); 4 = extracellular lipid with cholesterol crystals; 5 = fibrosis; 6 = surface defect, plaque hemorrhage, or thrombosis; 7 = >50% of plaque area calcified (with/without lipid core); 8 = hyalinized fibrous plaque (no lipid core); and 9 = total occlusion. Grade 0 was reclassified to absent; grades 1-3 to mild; grades 4-5 to moderate; and grade 6-9 to severe.<sup>14</sup>

### 2.7.2 | Bile duct

Injury of the biliary epithelium, stromal layer, and peribiliary vascular plexus was graded according to a systematic histological scoring system as described by Hansen et al<sup>15</sup> Injury of the peribiliary glands was assessed according to a scoring system proposed by Op den Dries et al in which subluminal glands were graded separately from deeper biliary glands located at the junction of bile duct wall stroma and the muscular layer and the degree of injury was graded using the following criteria: grade 0, no signs of injury; grade 1, <50% injury; grade 2, >50% injury<sup>16</sup> Table 1.

## 2.8 | Follow-up

All patients underwent daily blood tests the week after the transplant. After that, blood tests were performed every 2-3 days according to patient's evolution. We routinely perform cholangio-MRI at day 15 and day 90 after the transplant to assess the status of the bile duct and the anastomosis. Long-term follow-up at 12 months was also assessed. Biliary complications were defined as bile leak (collection drained with biliary output or undrained collection that is connected to the main bile duct in a cholangio-MRI), biliary stricture (symptomatic stenosis in the bile duct that requires dilation both by PTC or ERCP or reintervention), or asymptomatic biliary ectasia (asymptomatic biliary dilation with normal liver function tests that needs no intervention). For the diagnosis of acute cellular rejection, biopsies were examined independently by a liver pathologist (M.S-F) and graded as no rejection or mild, moderate or severe rejection according to the Banff score.<sup>17</sup>

## 2.9 | Statistical analysis

Normality Shapiro-Wilk tests were performed in every comparison. If normality was confirmed, parametric Student's *t* and chi-square tests were used and mean  $\pm$  SD were the values chosen for sample description. If the sample had no normal distribution, Mann-Whitney tests and chi-square analyses (with Fisher correction when necessary) were used for medians and proportion comparisons. All

**TABLE 2** Baseline descriptive characteristics of the study population (N = 23)

Descriptive results			
Donor		Recipient	
Age (y)	58.39 $\pm$ 14.3	Age (y)	53 $\pm$ 6.2
Gender (M/F ratio)	11/12	Gender (M/F ratio)	21/2
BMI	28.46 $\pm$ 4.6	BMI	25.95 $\pm$ 3.8
Diabetes	5/23 (21.7%)	Diabetes	6/23 (26.1%)
Hypertension	11/23 (47.8%)	Hypertension	6/23 (26.1%)
Dyslipidemia	3/23 (13%)	Dyslipidemia	2/23 (8.7%)
Smoking	12/23 (52.2%)	Smoking	15/23 (65.2%)
Alcohol	0/23 (0%)	Alcohol	17/23 (73.9%)
Sodium (mEq/L)	144 $\pm$ 7.5	Sodium (mEq/L)	133.5 $\pm$ 5.8
Bilirubin (mg/dL)	0.9 $\pm$ 0.6	Bilirubin (mg/dL)	6.8 $\pm$ 9.3
AST (U/L)	35 $\pm$ 27.4	AST (U/L)	71.6 $\pm$ 62.5
ALT (U/L)	36 $\pm$ 33.1	ALT (U/L)	46.2 $\pm$ 43.5
Inotropes (%)	19/23 (82.6%)	MELD pre-tx	17.9 $\pm$ 5.7
Macrosteat. <30%	19/23 (82.6%)	HCV	10/23 (43.5%)
I/R injury mod/sev	9/23 (39.1%)	HCC	8/23 (34.8%)
Technical intraoperative		Post-transplant follow-up	
CIT (min)	301 $\pm$ 109.2		
WIT (min)	39 $\pm$ 16	Post-tx inotropes	14/23 (60.9%)
RBC (units)	4.1 $\pm$ 3.5	Peak AST (U/L)	796.1 $\pm$ 482.3
FFP (units)	1.7 $\pm$ 1.8	Peak ALT (U/L)	599 $\pm$ 384.6
Platelets (units)	0.4 $\pm$ 0.5	ITU stay (d)	7.6 $\pm$ 5.9
Arterial anomaly	4/23 (17.4%)	Hospital stay (d)	26.2 $\pm$ 18.4
GDA ligation	19/23 (82.6%)	Acute rejection	5/23 (21.7%)
Cystic duct resection	12/23 (52.1%)	Re-surgery	3/23 (13%)
Arterial flowmetry	118.7 $\pm$ 57.9	Bile leak	3/23 (13%)
pO <sub>2</sub> end tx	209.8 $\pm$ 69.4	Bile stricture	2/23 (8.7%)
Saturation end tx	97% $\pm$ 0.7		

BMI, body mass index; I/R, ischemia-reperfusion; HCV, hepatitis C; HCC, hepatocellular carcinoma; CIT, cold ischemia time; WIT, warm ischemia time; RBC, red blood cells; FFP, fresh frozen plasma; GDA, gastroduodenal artery; ITU, intensive therapy unit.

statistical calculations were performed using IBM SPSS Statistics 12 [SPSS Inc., Chicago, IL, USA]. *P* values of <0.05 were considered to be statistically significant.

**TABLE 3** Oxygen microtension values

Oxygen microtension values									
Variables	Donor side				Variables	Recipient side			
	1.5 cm above	P	Anastomosis	P		Anastomosis	P	1.5 cm below	P
Basal	121.5 ± 25.5	–	103.8 ± 28.3	0.001	Basal	117.9 ± 34.4	–	137.3 ± 33.7	0.001
Resecting cystic duct (N = 12)	135.6 ± 19.5	–	117.8 ± 21.2	0.001					
Preserving cystic duct (N = 11)	106.2 ± 10.6	–	88.5 ± 15.7	0.001					
Donor age									
<65	129.1 ± 15.2	0.049	112.5 ± 15.7	0.13					
> 65	107.4 ± 35.0		87.6 ± 39.7						
Diabetes									
Yes (N = 5)	106.4 ± 14.4	0.14	80.6 ± 18.4	0.035	Yes (N = 6)	115.7 ± 21.2	0.21	137.2 ± 27.9	0.99
No (N = 18)	125.7 ± 26.6		110.27 ± 27.53		No (N = 17)	118.6 ± 38.6		137.3 ± 36.3	
HTA									
Yes (N = 11)	111.4 ± 30.1	0.07	91.7 ± 34.2	0.047	Yes (N = 6)	108.8 ± 39.9	0.47	132.3 ± 34.2	0.68
No (N = 12)	130.8 ± 16.6		114.9 ± 16.2		No (N = 17)	121.1 ± 33.0		139.1 ± 34.4	
Dyslipidemia									
Yes (N = 3)	105.3 ± 11.6	0.25	90.7 ± 11.7	0.40	Yes (N = 2)	102.5 ± 17.7	0.52	122.0 ± 7.1	0.51
No (N = 20)	123.9 ± 26.3		105.8 ± 29.7		No (N = 21)	119.3 ± 35.5		138.8 ± 34.9	
Smoking									
Yes (N12)	119.8 ± 20.3	0.84	101.8 ± 25.3	0.86	Yes (N = 15)	123.3 ± 34.6	0.31	141.9 ± 34.9	0.39
No (N = 11)	122.18 ± 31.63		104.0 ± 32.9		No (N = 8)	107.7 ± 34.0		128.7 ± 31.8	
BMI									
>30 (N = 8)	91.6 ± 16.1	0.13	107.5 ± 11.9	0.049	>30 (N = 5)	110.4 ± 33.2	0.59	138.8 ± 34.5	0.91
<30 (N = 15)	110.3 ± 31.7		129.0 ± 27.9		<30 (N = 18)	119.9 ± 36.0		136.9 ± 34.5	
GDA ligation									
Yes (N = 19)	117.9 ± 24.9	0.15	100.4 ± 28.0	0.21	Yes (N = 19)	114.4 ± 28.2	0.55	133.5 ± 29.6	0.25
No (N = 4)	138.5 ± 24.1		120.2 ± 27.4		No (N = 4)	134.2 ± 59.1		155.2 ± 50.5	
WIT									
<45 m (N = 14)	119.4 ± 26.7	0.54	111.9 ± 27.3	0.36	Yes (N = 4)	114.5 ± 52.2	0.85	131.25 ± 43.7	0.70
>45 m (N = 9)	112.4 ± 27.1		104.6 ± 6.6		No (N = 19)	118.6 ± 32.6		133.4 ± 31.5	
CIT									
<8 h (N = 21)	120.9 ± 26.2	0.69	102.6 ± 29.1	0.50					
>8 h (N = 2)	128.5 ± 20.5		117.0 ± 18.4						
Graft steatosis									
<30% (N = 19)	125.1 ± 23.3	0.97	108.8 ± 25.5	0.86					
>30% (N = 4)	125.5 ± 21.9		105.5 ± 26.7						

Comparative results of measurements of microO<sub>2</sub> tension in both donor and recipient sides at the level of the anastomosis or in distal areas and comparisons with donor and recipient risk variables.

### 3 | RESULTS

#### 3.1 | Descriptive baseline results

From November 2013 to February 2015, 23 cases were included in our study. Mean MELD score was 17.9 (Table 2). From the 23 cases, section of GDA was performed in 19 cases. Bile duct anastomosis

was performed after resection of the cystic duct on the donor side in 12 cases. Mean hospital stay was 26 days.

#### 3.2 | Oxygen microtension values

Significant differences were observed in the pO<sub>2</sub>mt between the anastomosis and 1.5 cm further from it, in both donor and recipient

sides ( $P = 0.001$ ; Table 3). Similarly, resection of the cystic duct also significantly increased the pO<sub>2</sub>mt values from 88.54 to 117.8 mm Hg at the level of the anastomosis ( $P = 0.001$ ). Donor variables that had impact on bile duct pO<sub>2</sub>mt values were diabetes, arterial hypertension, and BMI >30. In the recipient side, we could not detect any variable leading to a lower pO<sub>2</sub>mt. The preservation of GDA was specifically analyzed and pO<sub>2</sub> values were higher but not significant in the cases in which it was preserved.

### 3.3 | Pathological baseline analysis

According to the reported modification of Hansen classification, results from pathological analysis in both donor and recipients' arteries and bile ducts are displayed in Table 4. Only one donor artery had severe atherosclerosis. Interestingly, none of the bile ducts had significant thrombosis but biliary epithelium had some kind of disruption in most of the cases. As observed in the images, hepatic artery and donor/recipient bile ducts can vary from optimal cases to severely damaged cases with microscopically detected injuries (Figure 2).

### 3.4 | Correlation between microoxygenation values, histological analysis, and biliary complications

Four patients had a biliary complication during the first 15 days (17.4%). Three patients had a bile leak and the other one a biliary stricture. Another three cases had an asymptomatic biliary dilatation with no biochemical correlation. In the second cholangio-MRI (performed 90 days after the transplant), one new anastomotic stricture and three new asymptomatic biliary dilatations were detected. Considering the total number of biliary complications, five cases (21.7%) demanded additional interventions. One of the biliary strictures required stent placement by ERCP; one bile leak was treated with external drainage only and the other two underwent both external drain and stent by ERCP. The other biliary stricture required laparotomy and conversion into Roux-Y loop hepatico-jejunostomy but died at day +80 because of multiorgan failure due to sepsis. In the long-term setting, four additional patients developed biliary complications (up to 1-year after the LT). Two of them (purely anastomotic strictures) underwent stent placement percutaneously. The other two cases were not strictly anastomotic and were managed by percutaneous stent and dilatation, respectively. The correlation of pathology injuries and biliary complications with pO<sub>2</sub> values in both donor and recipient's sides is displayed in Figure 3. As observed, several biliary histological injuries correlated well with a low pO<sub>2</sub> value. Similarly, patients who developed 1-, 3-, and 12-month biliary complications had significantly lower pO<sub>2</sub> intraoperative values in donor and recipient's sides.

## 4 | DISCUSSION

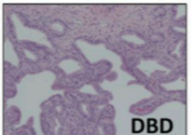
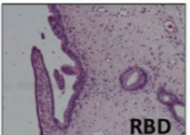
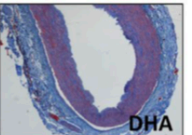
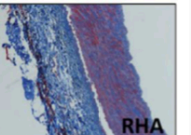
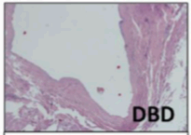
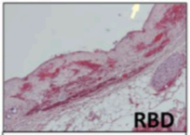
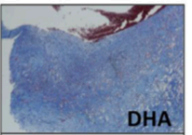
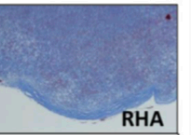
The biliary complication is a non-solved problem in worldwide LT programs. Irrespective of how expert the liver transplant

**TABLE 4** Pathology findings

	Donor bile duct	Recipient bile duct
Biliary epithelium		
G0	1 (4.3%)	0 (0%)
G1	4 (17.4%)	6 (26.1%)
G2	18 (78.1%)	17 (73.9%)
Peribiliary vascular plexus		
G0	8 (34.8%)	4 (17.4%)
G1	11 (47.8%)	15 (65.2%)
G2	4 (17.4%)	3 (13%)
G3	0 (0%)	1 (4%)
Mural stroma		
G0	2 (8.7%)	1 (4.3%)
G1	9 (39.1%)	12 (52.2%)
G2	8 (34.8%)	10 (43.5%)
G3	4 (17.4%)	0 (0%)
Thrombosis		
G0	23 (100%)	22 (95.7%)
G1	0 (0%)	1 (4.3%)
G2	0 (0%)	0 (0%)
Intramural bleeding		
G0	3 (13%)	5 (21.7%)
G1	14 (60.9%)	11 (47.8%)
G2	6 (26.1%)	7 (30.4%)
Periluminal peribiliary glands		
G0	1 (4.3%)	1 (4.3%)
G1	5 (21.7%)	9 (39.1%)
G2	17 (73.9%)	13 (56.5%)
Deep peribiliary glands		
G0	4 (17.4%)	1 (4.3%)
G1	11 (47.8%)	16 (69.6%)
G2	8 (34.8%)	6 (26.1%)
Inflammation		
G0	0 (0%)	0 (0%)
G1	15 (65.2%)	12 (52.2%)
G2	8 (34.8%)	11 (47.8%)
Atherosclerosis		
Abs	3 (13%)	1 (4.3%)
Mild	14 (60.9%)	11 (47.8%)
Mod	5 (21.7%)	11 (47.8%)
Sev	1 (4.3%)	0 (0%)

Bile duct damage according to the Hansen scale<sup>15</sup> and distribution in donor and recipient sides.

program is, up to 10%-15% of the patients will have any kind of biliary problem that will require endoscopic, radiologic, or surgical management in the short- or long-term follow-up. Once the biliary complication happens, dealing with it is always a difficult

	BILE DUCT		HEPATIC ARTERY	
	DONOR	RECIPIENT	DONOR	RECIPIENT
FAVOURABLE CASE	 <p><b>DBD</b> Epithelium G1 Stroma G0 Peripheral vascular plexus G0 Thrombosis G0 Intraluminal bleeding G0 Periluminal peribiliary glands G0 Deep peribiliary glands G1</p>	 <p><b>RBD</b> Epithelium G1 Strom G1 Peripheral vascular plexus G0 Thrombosis G0 Intraluminal bleeding G1 Periluminal peribiliary glands G1 Deep peribiliary glands G</p>	 <p><b>DHA</b> Mild atherosclerosis</p>	 <p><b>RHA</b> Absent atherosclerosis</p>
NON-FAVOURABLE CASE	 <p><b>DBD</b> Epithelium G3 Stroma G2 Peripheral vascular plexus G1 Thrombosis G0 Intraluminal bleeding G1 Periluminal peribiliary glands G3 Deep peribiliary glands G3</p>	 <p><b>RBD</b> Epithelium G3 Strom G1 Peripheral vascular plexus G2 Thrombosis G0 Intraluminal bleeding G2 Periluminal peribiliary glands G2 Deep peribiliary glands G3</p>	 <p><b>DHA</b> Moderate atherosclerosis</p>	 <p><b>RHA</b> Severe atherosclerosis</p>

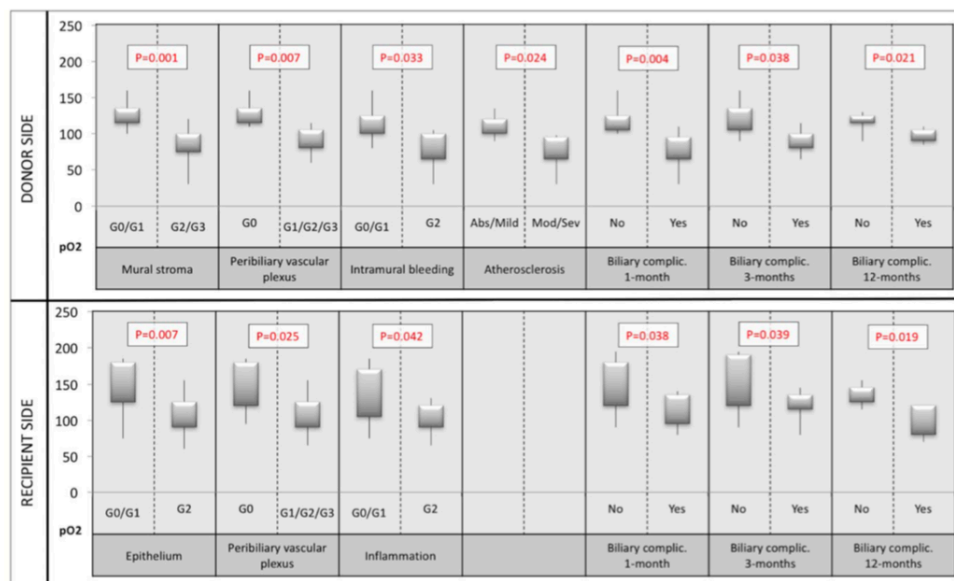
**FIGURE 2** Pathological assessment of common bile duct and hepatic artery biopsies. Above, a combination of donor and recipient that was optimal, with excellent pathology analysis. The patient had no bile duct complications, and pO<sub>2</sub> measurements were over 110 mm Hg in both sides. Below, a poor combination, in which both donor and recipient sides were severely injured. The patient had a moderate bile duct stenosis 3 mo after the transplant. The pO<sub>2</sub> measurements were around 80 mm Hg

task that may increase the risk of mortality. Our study may help give a better knowledge of the physiology of the bile duct anastomosis in the LT context and prevent the development of biliary anastomotic complications by four main reasons: first, it is the first manuscript in which an attempt to describe where the bile duct is better vascularized in a scientific way is reported; second, it was usually thought, but had never been proven that cystic duct resection is adequate for biliary anastomosis; we give some evidence on the fact that cystic duct resection may be appropriate leading to a better-vascularized anastomosis; third, although preliminary, the "marginal" bile duct is a concept that should be considered with factors affecting the quality of this structure, as happens with other organs (for example, the glomerulus); and fourth, it raises a potential tool that could lead to intraoperative decisions in order to choose an adequately oxygenated area to perform the bile duct anastomosis.

The main idea of our research rose from a simple question. Why do different LT programs have different techniques in performing the biliary anastomosis? Some centers resect the cystic duct; some others not. Some centers are really strict by going up in the donor

side and down in the recipient side but some others do not even consider this. We hypothesized that the key of anastomotic biliary problems may have two origins: first, the poor lineal vascularization surrounding the bile duct<sup>18</sup>; and second, insufficient proper scientific analysis of biliary pathology according to donor and recipient factors that could correlate with bile duct oxygenation. After this question, we searched for devices that could test intraoperative bile duct oxygenation without damaging the tissue. Afterward, we tried to find out if these values may correlate with poor pathology analysis and potential complications.

The devices that we used are popular in applications as tumor research, cerebral monitoring, free-flap/pedicle-flap transfer surgery, and in a variety of specialist in vitro applications including hypoxic cell culture, tissue engineering, and bioreactor monitoring.<sup>8-11</sup> The surface area of the tip of the fiber-optic oxygen sensors that we used is estimated to be approximately 0.25 mm<sup>2</sup>. In a typical tissue, this surface area may correspond to direct exposure of around 1000 cells. As this was a non-intervention procedure, we decided to let the leading surgeons decide the place of the biliary anastomosis as they preferred according to their surgical expertise and, afterward, a



**FIGURE 3** Correlation between pathological analysis of bile duct and hepatic artery, biliary complications, and pO<sub>2</sub> values. In the X-axis are displayed the factors that were significantly different according to pO<sub>2</sub> measurements (displayed in the Y-axis) in both donor (above) and recipient's (below) sides. As observed, several factors were impaired when low pO<sub>2</sub> measurements were observed

different team would do the biliary anastomosis always in the same manner and perform the measurements. In our opinion, this was helpful for the control of the technical bias.

It has been speculated that donor factors may have led to a serious increase of biliary complications in the post-MELD era.<sup>19,20</sup> This is supposed to be multifactorial, since donors were older and the incidence of hepatic artery thrombosis (HAT) higher in the post-MELD era. Other groups identified high BMI and macrovascular steatosis as potential risk factors for anastomotic complications in multivariate analysis.<sup>21,22</sup> However, some others found no difference in the rate of anastomotic complications in donors over 60 years.<sup>23</sup> This theoretical risk for the development of anastomotic strictures has not been proven in donors after cardiac death either, which only seem to increase the rate of non-anastomotic strictures.<sup>21-24</sup> Hansen stated in 2012 that damage to the microvasculature is associated with an increased risk for the development of biliary complications.<sup>15</sup> He recommended to elucidate the possible causes of hypoxic injury, investigate donor factors, and correlate them with the respective histopathological findings. We have done so and we have included a potential intraoperative tool that could give us a preliminary knowledge of bile duct hypoxia.

Our results are consistent and, although preliminary, may help define the concept of a "marginal bile duct" in the LT context. The facts that it is prospective and that all the measurements were performed by the same persons in a blinded fashion to the main

surgeon, make the results from our study relatively unbiased from a technical point of view. However, there are some limitations that should be considered. First, we are aware that the number of cases is not wide and maybe more factors (as section of GDA) may become significant; second, due to the limited number of cases, multivariate models were not performed; third, measurements are not easy and require some patience and testing different areas as sometimes if the tissue is too fatty, the values become variable; fourth, we did not consider patient's hemodynamics at the moment of the measurements and, although all the measurements were performed in an usual stable moment for the patient (after portal and arterial reperfusion), this should be noted; fifth, the oxygen measurement and the histologic evaluation were done on slightly different regions of the bile duct (as biopsies were obtained prior to performing the anastomosis) and at different time points (when the anastomosis was finalized) as we wanted just to observe and not to modify the biliary procedure. However, the time difference between the biopsy and the oxygen measurement was the time to perform the biliary anastomosis (which may take roughly about 20 minutes); and sixth, the cost-benefit analysis would need to be carefully evaluated. Each probe costs around 300€ and the device around 40 000€ (however, probes may be sterilized and used in several cases, reducing the economic impact). One could argue that probably, after the results of our study, it seems reasonable to resect the cystic duct and go as far as possible from the section border without the need of using this



device. This may be an appropriate option and we have given some evidence to support these "technical recommendations". However, the impact of donor factors and GDA ligation on bile duct viability could be a potential area of research in the future, and may be for other groups. Also, we cannot give a strong explanation of the different behavior of well-known risk factors of microangiopathy (diabetes, BMI, hypertension) in the donor vs the recipient. In our opinion, although the number of patients is limited and may just be a statistical artifact, we could speculate with the fact that "marginal" bile ducts with risk factors of microangiopathy may get exponentially potentiated by adding preservation and cold ischemia time as additional risk factors. As a final step, it could be considered that a remarkably low pO<sub>2</sub> value may be useful to detect a risky bile duct and, then, lead to refashioning the anastomosis or to the use of a T-tube for the prevention of further complications.

Our findings correlating a "marginal" bile duct with markers of arterial impairments are innovative but should also be considered cautiously. In one of the very early studies of ischemic-type biliary lesions, it was reported that bile duct strictures could represent injury of the microvasculature and mentioned arteriolar necrosis as one possible cause.<sup>25</sup> Vascular lesions can be attributed to hypoxic damage on the endothelial cells leading to subintimal edema and subsequently causing arteriolonecrosis. Following erythrocyte extravasation through damaged vessels, intramural hemorrhage might also reflect this pathway. However, a chronic pattern can be identified in our study, similarly to the main features of nephrosclerosis that can be found on a kidney biopsy including glomerulosclerosis (focal and global, but not segmental), tubular atrophy, interstitial fibrosis, and arteriosclerosis (fibrointimal thickening). As observed in Figure 3, findings of acute and chronic damage can be found correlating with reduced oxygenation. Interestingly, atherosclerosis in the artery of the donor led to reduced oxygenation. Whether these findings of chronic injury may clearly impact the integrity of the biliary anastomosis in the LT setting may need further investigation.

Despite the limitations, and considering the strengths of our research, we cautiously think that we have risen the first description of a "marginal bile duct," similarly to what happened with the "marginal livers". Several conclusions can be obtained from our study. MicropO<sub>2</sub> tissue measurements may be useful to detect risky bile ducts. We have also anatomically showed evidence regarding the fact that proximal donor and distal recipient areas are better oxygenated and thus, biliary anastomosis should be performed as close as possible to donor hilar plate and recipient's distal duct. According to our results, we could suggest that cystic duct in both sides should be resected as anastomosis above the cystic duct is significantly better oxygenated. All the micropO<sub>2</sub> values correlated with worse pathology findings and with the development of post-transplant biliary complications. Although the number of cases is not too wide, our anatomic, physiologic, pathologic, and dynamic study raises suspected but not proven issues related with the biliary anastomosis that may be helpful for liver transplant programs worldwide.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interests.

## ORCID

Ruben Ciria  <http://orcid.org/0000-0002-7839-2329>

## REFERENCES

- Shapiro AL, Robillard GL. The arterial blood supply of the common and hepatic bile ducts with reference to the problems of common duct injury and repair. *Surgery*. 1948;23:1-11.
- Douglass TC. Arterial blood supply of the common bile duct. *Arch Surg*. 1948;57:599-612.
- Northover J, Terblanche J. A new look at the arterial supply of the bile duct in man and its surgical implications. *Br J Surg*. 1979;66:379-384.
- Akamatsu N, Sugawara Y, Hashimoto D. Biliary reconstruction, its complications and management of biliary complications after adult liver transplantation: a systematic review of the incidence, risk factors and outcome. *Transpl Int*. 2011;24:379-392.
- Seehofer D, Eurich D, Veltzke-Schlieker W, Nehaus P. Biliary complications after liver transplantation: old problems and new challenges. *Am J Transplant*. 2013;13:253-265.
- Briceño J, Marchal T, Padillo J, Solórzano G, Pera C. Influence of marginal donors on liver preservation injury. *Transplantation*. 2002;74:522-526.
- Briceño J, Ciria R, de la Mata M, Rufián S, López-Cillero P. Prediction of graft dysfunction based on extended criteria donors in the model for end-stage liver disease score era. *Transplantation*. 2010;90:530-539.
- Jonas R, Schaal T, Krimmel M, Gülicher D, Reinert S, Hoffmann J. Monitoring in microvascular tissue transfer by measurement of oxygen partial pressure: four years experience with 125 microsurgical transplants. *J Craniomaxillofac Surg*. 2013;41:303-309.
- Raittinen L, Pukander J, Laranne J. Early recognition of ischemia with continuous real-time tissue oxygen monitoring in head and neck microvascular flaps. *Eur J Plast Surg*. 2012;35:517-520.
- Holekamp NM, Shui Y-B, Beebe D. Lower intraocular oxygen tension in diabetic patients: possible contribution to decreased incidence of nuclear sclerotic cataract. *Am J Ophthalmol*. 2005;141:1027-1032.
- Rasekhi A, Sharifian M, Kazemi K, Hosseini SA. The use of micro pulse oximetry as a new detector of tissue perfusion in solid organ transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2012;23:715-718.
- Dalager S, Paaske WP, Bayer Kristensen I, Laurberg JM, Falk E. Artery-related differences in atherosclerosis expression: implications for atherogenesis and dynamics in intima-media thickness. *Stroke*. 2007;38:2698-2705.
- Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1262-1275.
- Erete EI, Ogun OG, Oladapo OO, Akang EE. Prevalence and severity of atherosclerosis in extra cranial carotid arteries in Nigeria: an autopsy study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2012;12:106.
- Hansen T, Hollemann D, Pitton MB, Heise M, Hoppe-Lotichius M, Schuchmann M. Histological examination and evaluation of donor bile ducts received during orthotopic liver transplantation—a morphological clue to ischemic-type biliary lesion? *Virchows Arch*. 2012;461:41-48.
- den Dries SO, Westerkamp AC, Karimian N, et al. Injury to peribiliary glands and vascular plexus before liver transplantation predicts formation of non-anastomotic biliary strictures. *J Hepatol*. 2014;60:1172-1179.

17. Demetris AJ, Batts KP, Dhillon AP, et al. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology*. 1997;25(3):658-663.
18. Chen WJ, Ying DJ, Liu ZJ, He ZP. Analysis of the arterial supply of the extrahepatic bile ducts and its clinical significance. *Clin Anat*. 1999;12:245-249.
19. Verdonk RC, Buis CI, Porte RJ, et al. Anastomotic biliary strictures after liver transplantation: causes and consequences. *Liver Transpl*. 2006;12:726-735.
20. Sundaram V, Jones DT, Shah NH, et al. Posttransplant biliary complications in the pre- and post-model for end-stage liver disease era. *Liver Transpl*. 2011;17:428-435.
21. Foley DP, Fernandez LA, Levenson G, et al. Biliary complications after liver transplantation from donation after cardiac death donors: an analysis of risk factors and long-term outcomes from a single center. *Ann Surg*. 2011;253:817-825.
22. Baccarani U, Isola M, Adani GL, et al. Steatosis of the hepatic graft as a risk factor for post-transplant biliary complications. *Clin Transplant*. 2010;24:631-635.
23. Serrano MT, García-Gil A, Arenas J, et al. Outcome of liver transplantation using donors older than 60 years of age. *Clin Transplant*. 2009;24:543-549.
24. Suárez F, Otero A, Solla M, et al. Biliary complications after liver transplantation from maastricht category-2 non-heart-beating donors. *Transplantation*. 2008;85:9-14.
25. Sanchez-Urdazpal L, Gores GJ, Ward EM, et al. Ischemic-type biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatology*. 1992;16:49-53.

#### SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

**How to cite this article:** Ciria R, Navarro E, Sánchez-Frías M, et al. Preliminary results from the use of intraoperative real-time biliary oxygen monitoring in liver transplantation. *Clin Transplant*. 2018;e13433. <https://doi.org/10.1111/ctr.13433>





## C. Premios

### 1. PREMIO MEJOR COMUNICACIÓN ORAL:

Determinaciones “in vivo” de microtensión tisular de oxígeno como marcador de viabilidad de la vía biliar en el trasplante hepático.

Navarro Rodríguez E, Ciria Bru R, Medina Fernández FJ, Sánchez Frías M, Gallardo Herrera AB, Rufián Peña S, López Cillero P, Briceño Delgado J. IX Congreso de la SATOT (7-9 de Junio de 2015, Córdoba, España).



## 2. PREMIADA COMO MEJOR COMUNICACIÓN ORAL (YOUNG INVESTIGATOR AWARD:

Real-time measurements of tissue oxygen microtension as a marker of bile duct viability in liver transplantation.

Ruben Ciria, Elena Navarro, Ana Belen Gallardo, Javier Medina, Marina Sánchez-Frías, María Dolores Ayllón, Sebastian Rufian, Pedro Lopez-Cillero, Javier Briceño. International Liver Transplantation Society (8-11 de Julio de 2015, Chicago, EEUU).







## 9. REFERENCIAS

1. Imamura H, Brault A, Huet PM. Effects of extended cold preservation and transplantation on the rat liver microcirculation. *Hepatology* 1997; 25(3):664-71.
2. McKeown CM, Edwards V, Phillips MJ, et al. Sinusoidal lining cell damage: the critical injury in cold preservation of liver allografts in the rat. *Transplantation* 1988; 46(2):178-91.
3. Noack K, Bronk SF, Kato A, et al. The greater vulnerability of bile duct cells to reoxygenation injury than to anoxia. Implications for the pathogenesis of biliary strictures after liver transplantation. *Transplantation* 1993; 56(3):495-500.
4. Deltenre P, Valla DC. Ischemic cholangiopathy. *Semin Liver Dis* 2008; 28(3):235-46.
5. Fan ST, Lo CM, Liu CL, et al. Biliary reconstruction and complications of right lobe live donor liver transplantation. *Ann Surg* 2002; 236(5):676-83.
6. Briceno J, Ciria R, de la Mata M, et al. Prediction of graft dysfunction based on extended criteria donors in the model for end-stage liver disease score era. *Transplantation* 2010; 90(5):530-9.
7. Northover JM, Terblanche J. A new look at the arterial supply of the bile duct in man and its surgical implications. *Br J Surg* 1979; 66(6):379-84.
8. Douglass TC, Cutter WW. Arterial blood supply of the common bile duct. *Arch Surg* 1948; 57(4):599-612.
9. Gunji H, Cho A, Tohma T, et al. The blood supply of the hilar bile duct and its relationship to the communicating arcade located between the right and left hepatic arteries. *Am J Surg* 2006; 192(3):276-80.

10. Karoliotas CC BC, Habiib NA. Liver and biliary tract surgery. Embriological anatomy to 3D Imaging and transplant innovations. Grecia: springer verlag, 2006.
11. Englesbe MJ, Dimick J, Mathur A, et al. Who pays for biliary complications following liver transplant? A business case for quality improvement. *Am J Transplant* 2006; 6(12):2978-82.
12. Llado L, Fabregat J, Ramos E, et al. [Role of surgery in the management of biliary complications after liver transplantation]. *Cir Esp* 2010; 87(6):364-71.
13. Llado L, Figueras J. Techniques of orthotopic liver transplantation. *HPB (Oxford)* 2004; 6(2):69-75.
14. Moser MA, Wall WJ. Management of biliary problems after liver transplantation. *Liver Transpl* 2001; 7(11 Suppl 1):S46-52.
15. Pascher A, Neuhaus P. Biliary complications after deceased-donor orthotopic liver transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13(6):487-96.
16. Putnam CW, Beart RW, Jr., Bell RH, Jr., et al. Hepatic transplantation, 1975. *Postgrad Med J* 1976; 52(5 Suppl):104-8.
17. Sociedad Espanola de Trasplante H. [Consensus document of the Spanish Society of Liver Transplantation. Access to liver transplant, indications, controversies, prioritisation of waiting lists and quality indicators]. *Cir Esp* 2008; 83(6):290-300.
18. Verdonk RC, Buis CI, Porte RJ, et al. Biliary complications after liver transplantation: a review. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2006(243):89-101.
19. Neuhaus P, Blumhardt G, Bechstein WO, et al. Technique and results of biliary reconstruction using side-to-side choledochocholedochostomy in 300 orthotopic liver transplants. *Ann Surg* 1994; 219(4):426-34.

20. Davidson BR, Rai R, Kurzawinski TR, et al. Prospective randomized trial of end-to-end versus side-to-side biliary reconstruction after orthotopic liver transplantation. *Br J Surg* 1999; 86(4):447-52.
21. Jablonska B, Lampe P. Iatrogenic bile duct injuries: etiology, diagnosis and management. *World J Gastroenterol* 2009; 15(33):4097-104.
22. Jablonska B. The arterial blood supply of the extrahepatic biliary tract — surgical aspects. *Polish Journal of Surgery* 2008; 80:336-42.
23. Jablonska B, Lampe P, Olakowski M, et al. Hepaticojejunostomy vs. end-to-end biliary reconstructions in the treatment of iatrogenic bile duct injuries. *J Gastrointest Surg* 2009; 13(6):1084-93.
24. Castaldo ET, Pinson CW, Feurer ID, et al. Continuous versus interrupted suture for end-to-end biliary anastomosis during liver transplantation gives equal results. *Liver Transpl* 2007; 13(2):234-8.
25. Haberal M, Sevmis S, Emiroglu R, et al. Duct-to-duct biliary reconstruction in pediatric liver transplantation: one center's results. *Transplant Proc* 2007; 39(4):1161-3.
26. Ishiko T, Egawa H, Kasahara M, et al. Duct-to-duct biliary reconstruction in living donor liver transplantation utilizing right lobe graft. *Ann Surg* 2002; 236(2):235-40.
27. Liu C, Loong CC, Hsia CY, et al. Duct-to-duct biliary reconstruction in selected cases in pediatric living-donor left-lobe liver transplantation. *Pediatr Transplant* 2009; 13(6):693-6.
28. Wojcicki M, Milkiewicz P, Silva M. Biliary tract complications after liver transplantation: a review. *Dig Surg* 2008; 25(4):245-57.

29. Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH, et al. Evolution of liver transplantation. *Hepatology* 1982; 2(5):614-36.
30. Amador A, Charco R, Marti J, et al. Clinical trial on the cost-effectiveness of T-tube use in an established deceased donor liver transplantation program. *Clin Transplant* 2007; 21(4):548-53.
31. Scatton O, Meunier B, Cherqui D, et al. Randomized trial of choledochocholedochostomy with or without a T tube in orthotopic liver transplantation. *Ann Surg* 2001; 233(3):432-7.
32. Paes-Barbosa FC, Massarollo PC, Bernardo WM, et al. Systematic review and meta-analysis of biliary reconstruction techniques in orthotopic deceased donor liver transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2011; 18(4):525-36.
33. Riediger C, Muller MW, Michalski CW, et al. T-Tube or no T-tube in the reconstruction of the biliary tract during orthotopic liver transplantation: systematic review and meta-analysis. *Liver Transpl* 2010; 16(6):705-17.
34. Sotiropoulos GC, Sgourakis G, Radtke A, et al. Orthotopic liver transplantation: T-tube or not T-tube? Systematic review and meta-analysis of results. *Transplantation* 2009; 87(11):1672-80.
35. Huang WD, Jiang JK, Lu YQ. Value of T-tube in biliary tract reconstruction during orthotopic liver transplantation: a meta-analysis. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; 12(5):357-64.
36. Calne RY. A new technique for biliary drainage in orthotopic liver transplantation utilizing the gall bladder as a pedicle graft conduit between the donor and recipient common bile ducts. *Ann Surg* 1976; 184(5):605-9.



37. Klein AS, Savader S, Burdick JF, et al. Reduction of morbidity and mortality from biliary complications after liver transplantation. *Hepatology* 1991; 14(5):818-23.
38. Calne RY, McMaster P, Portmann B, et al. Observations on preservation, bile drainage and rejection in 64 human orthotopic liver allografts. *Ann Surg* 1977; 186(3):282-90.
39. Evans RA, Raby ND, O'Grady JG, et al. Biliary complications following orthotopic liver transplantation. *Clin Radiol* 1990; 41(3):190-4.
40. Greif F, Bronsther OL, Van Thiel DH, et al. The incidence, timing, and management of biliary tract complications after orthotopic liver transplantation. *Ann Surg* 1994; 219(1):40-5.
41. Starzl TE, Putnam CW, Hansbrough JF, et al. Biliary complications after liver transplantation: with special reference to the biliary cast syndrome and techniques of secondary duct repair. *Surgery* 1977; 81(2):212-21.
42. Williams R, Smith M, Shilkin KB, et al. Liver transplantation in man: the frequency of rejection, biliary tract complications, and recurrence of malignancy based on an analysis of 26 cases. *Gastroenterology* 1973; 64(5):1026-48.
43. Reames BN, Ghaferi AA, Birkmeyer JD, et al. Hospital volume and operative mortality in the modern era. *Ann Surg* 2014; 260(2):244-51.
44. Sibulesky L, Taner CB, Perry DK, et al. Bile duct stenting in liver transplantation. *Transpl Int* 2012; 25(3):e45-6.
45. Welling TH, Heidt DG, Englesbe MJ, et al. Biliary complications following liver transplantation in the model for end-stage liver disease era: effect of donor, recipient, and technical factors. *Liver Transpl* 2008; 14(1):73-80.

46. Seehofer D, Eurich D, Veltzke-Schlieker W, et al. Biliary complications after liver transplantation: old problems and new challenges. *Am J Transplant* 2013; 13(2):253-65.
47. Sundaram V, Jones DT, Shah NH, et al. Posttransplant biliary complications in the pre- and post-model for end-stage liver disease era. *Liver Transpl* 2011; 17(4):428-35.
48. Axelrod DA, Dzebisashvili N, Lentine KL, et al. Variation in biliary complication rates following liver transplantation: implications for cost and outcome. *Am J Transplant* 2015; 15(1):170-9.
49. Parke WW, Michels NA, Ghosh GM. Blood supply of the common bile duct. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 117:47-55.
50. Maguire D, Rela M, Heaton ND. Biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Transplantation Reviews* 2002; 16(4):220-240.
51. Thuluvath PJ, Pfau PR, Kimmey MB, et al. Biliary complications after liver transplantation: the role of endoscopy. *Endoscopy* 2005; 37(9):857-63.
52. Akamatsu N, Sugawara Y, Hashimoto D. Biliary reconstruction, its complications and management of biliary complications after adult liver transplantation: a systematic review of the incidence, risk factors and outcome. *Transpl Int* 2011; 24(4):379-92.
53. Mahajani RV, Cotler SJ, Uzer MF. Efficacy of endoscopic management of anastomotic biliary strictures after hepatic transplantation. *Endoscopy* 2000; 32(12):943-9.
54. Verdonk RC, Buis CI, Porte RJ, et al. Anastomotic biliary strictures after liver transplantation: causes and consequences. *Liver Transpl* 2006; 12(5):726-35.

55. Buis CI, Hoekstra H, Verdonk RC, et al. Causes and consequences of ischemic-type biliary lesions after liver transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2006; 13(6):517-24.
56. Verdonk RC, Buis CI, van der Jagt EJ, et al. Nonanastomotic biliary strictures after liver transplantation, part 2: Management, outcome, and risk factors for disease progression. *Liver Transpl* 2007; 13(5):725-32.
57. Detry O, Donckier V, Lucidi V, et al. Liver transplantation from donation after cardiac death donors: initial Belgian experience 2003-2007. *Transpl Int* 2010; 23(6):611-8.
58. Suarez F, Otero A, Solla M, et al. Biliary complications after liver transplantation from maastricht category-2 non-heart-beating donors. *Transplantation* 2008; 85(1):9-14.
59. Born P, Rosch T, Willkomm G, et al. Initial experience with a new Yamakawa-type prosthesis for long-term percutaneous transhepatic drainage. *Endoscopy* 1999; 31(9):748-50.
60. Buis CI, Verdonk RC, Van der Jagt EJ, et al. Nonanastomotic biliary strictures after liver transplantation, part 1: Radiological features and risk factors for early vs. late presentation. *Liver Transpl* 2007; 13(5):708-18.
61. Moench C, Moench K, Lohse AW, et al. Prevention of ischemic-type biliary lesions by arterial back-table pressure perfusion. *Liver Transpl* 2003; 9(3):285-9.
62. Serrano MT, Garcia-Gil A, Arenas J, et al. Outcome of liver transplantation using donors older than 60 years of age. *Clin Transplant* 2010; 24(4):543-9.

63. Guichelaar MM, Benson JT, Malinchoc M, et al. Risk factors for and clinical course of non-anastomotic biliary strictures after liver transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3(7):885-90.
64. Gholson CF, Zibari G, McDonald JC. Endoscopic diagnosis and management of biliary complications following orthotopic liver transplantation. *Dig Dis Sci* 1996; 41(6):1045-53.
65. Cursio R. Caspase inhibition in liver transplantation: from basic research to clinical studies. *HPB (Oxford)* 2010; 12(1):1-3.
66. Villa R, Fondevila C, Erill I, et al. Real-time direct measurement of human liver allograft temperature from recovery to transplantation. *Transplantation* 2006; 81(3):483-6.
67. Clavien PA, Harvey PR, Strasberg SM. Preservation and reperfusion injuries in liver allografts. An overview and synthesis of current studies. *Transplantation* 1992; 53(5):957-78.
68. Corradini SG, Micheletta F, Natoli S, et al. High preoperative recipient plasma 7beta-hydroxycholesterol is associated with initial poor graft function after liver transplantation. *Liver Transpl* 2005; 11(12):1494-504.
69. Sanchez-Urdazpal L, Gores GJ, Ward EM, et al. Ischemic-type biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1992; 16(1):49-53.
70. Zhai Y, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Liver ischemia and reperfusion injury: new insights into mechanisms of innate-adaptive immune-mediated tissue inflammation. *Am J Transplant* 2011; 11(8):1563-9.
71. Cursio R, Gugenheim J. Ischemia-Reperfusion Injury and Ischemic-Type Biliary Lesions following Liver Transplantation. *J Transplant* 2012; 2012:164329.

72. Jaeschke H, Farhood A. Kupffer cell activation after no-flow ischemia versus hemorrhagic shock. *Free Radic Biol Med* 2002; 33(2):210-9.
73. Cursio R, Gugenheim J, Panaia-Ferrari P, et al. Improvement of normothermic rat liver ischemia/reperfusion by muramyl dipeptide. *J Surg Res* 1998; 80(2):339-44.
74. Feng L, Pang L, Guo Y, et al. Hypoxia/reoxygenation up-regulates death receptor expression and enhances apoptosis in human biliary epithelial cells. *Life Sci* 2009; 85(9-10):401-7.
75. Wang Z, Zhou J, Lin J, et al. RhGH attenuates ischemia injury of intrahepatic bile ducts relating to liver transplantation. *J Surg Res* 2011; 171(1):300-10.
76. Op den Dries S, Sutton ME, Lisman T, et al. Protection of bile ducts in liver transplantation: looking beyond ischemia. *Transplantation* 2011; 92(4):373-9.
77. Busquets J, Figueras J, Serrano T, et al. Postreperfusion biopsy changes predict biliary complications after liver transplantation. *Transplant Proc* 2002; 34(1):256-8.
78. Ballatori N, Truong AT. Glutathione as a primary osmotic driving force in hepatic bile formation. *Am J Physiol* 1992; 263(5 Pt 1):G617-24.
79. Boushel R, Piantadosi CA. Near-infrared spectroscopy for monitoring muscle oxygenation. *Acta Physiol Scand* 2000; 168(4):615-22.
80. Cope M. The Development of a Near-Infrared Spectroscopy System and Its Application for Noninvasive Monitoring of Cerebral Blood and Tissue Oxygenation in the Newborn Infant. *University college London: London* 1991.
81. Farrell TJ, Patterson MS, Wilson B. A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the noninvasive determination of tissue optical properties in vivo. *Med Phys* 1992; 19(4):879-88.

82. Garr JL, Gentilello LM, Cole PA, et al. Monitoring for compartmental syndrome using near-infrared spectroscopy: a noninvasive, continuous, transcutaneous monitoring technique. *J Trauma* 1999; 46(4):613-6; discussion 617-8.
83. Liu H, Chance B, Hielscher AH, et al. Influence of blood vessels on the measurement of hemoglobin oxygenation as determined by time-resolved reflectance spectroscopy. *Med Phys* 1995; 22(8):1209-17.
84. Sevick EM, Chance B, Leigh J, et al. Quantitation of time- and frequency-resolved optical spectra for the determination of tissue oxygenation. *Anal Biochem* 1991; 195(2):330-51.
85. Tamura T, Eda H, Takada M, et al. New instrument for monitoring hemoglobin oxygenation. *Adv Exp Med Biol* 1989; 248:103-7.
86. Elas M, Ahn KH, Parasca A, et al. Electron paramagnetic resonance oxygen images correlate spatially and quantitatively with Oxylite oxygen measurements. *Clin Cancer Res* 2006; 12(14 Pt 1):4209-17.
87. Dyson A, Stidwill R, Taylor V, et al. Tissue oxygen monitoring in rodent models of shock. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 293(1):H526-33.
88. Holekamp NM, Shui YB, Beebe DC. Vitrectomy surgery increases oxygen exposure to the lens: a possible mechanism for nuclear cataract formation. *Am J Ophthalmol* 2005; 139(2):302-10.
89. Holekamp NM, Shui YB, Beebe D. Lower intraocular oxygen tension in diabetic patients: possible contribution to decreased incidence of nuclear sclerotic cataract. *Am J Ophthalmol* 2006; 141(6):1027-32.
90. Hansen T, Hollemann D, Pitton MB, et al. Histological examination and evaluation of donor bile ducts received during orthotopic liver transplantation--a

- morphological clue to ischemic-type biliary lesion? *Virchows Arch* 2012; 461(1):41-8.
91. op den Dries S, Westerkamp AC, Karimian N, et al. Injury to peribiliary glands and vascular plexus before liver transplantation predicts formation of non-anastomotic biliary strictures. *J Hepatol* 2014; 60(6):1172-9.
  92. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation* 1995; 92(5):1355-74.
  93. Adinolfi LE, Gambardella M, Andreana A, et al. Steatosis accelerates the progression of liver damage of chronic hepatitis C patients and correlates with specific HCV genotype and visceral obesity. *Hepatology* 2001; 33(6):1358-64.
  94. Kakizoe S, Yanaga K, Starzl TE, et al. Evaluation of protocol before transplantation and after reperfusion biopsies from human orthotopic liver allografts: considerations of preservation and early immunological injury. *Hepatology* 1990; 11(6):932-41.
  95. Vanderkooi JM, Maniara G, Green TJ, et al. An optical method for measurement of dioxygen concentration based upon quenching of phosphorescence. *J Biol Chem* 1987; 262(12):5476-82.
  96. Golman K, Petersson JS, Ardenkjaer-Larsen JH, et al. Dynamic in vivo oxymetry using overhauser enhanced MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 2000; 12(6):929-38.
  97. Krishna MC, English S, Yamada K, et al. Overhauser enhanced magnetic resonance imaging for tumor oximetry: coregistration of tumor anatomy and tissue oxygen concentration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99(4):2216-21.

98. Goda F, Liu KJ, Walczak T, et al. In vivo oximetry using EPR and India ink. *Magn Reson Med* 1995; 33(2):237-45.
99. Griffiths JR, Robinson SP. The OxyLite: a fibre-optic oxygen sensor. *Br J Radiol* 1999; 72(859):627-30.
100. Seddon BM, Honess DJ, Vojnovic B, et al. Measurement of tumor oxygenation: in vivo comparison of a luminescence fiber-optic sensor and a polarographic electrode in the p22 tumor. *Radiat Res* 2001; 155(6):837-46.
101. Jonas R, Schaal T, Krimmel M, et al. Monitoring in microvascular tissue transfer by measurement of oxygen partial pressure: four years experience with 125 microsurgical transplants. *J Craniomaxillofac Surg* 2013; 41(4):303-9.
102. Rasekhi A, Sharifian M, Kazemi K, et al. The use of micro pulse oximetry as a new detector of tissue perfusion in solid organ transplantation. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2012; 23(4):715-8.
103. Sharma S, Gurakar A, Jabbour N. Biliary strictures following liver transplantation: past, present and preventive strategies. *Liver Transpl* 2008; 14(6):759-69.
104. Dubbeld J, Hoekstra H, Farid W, et al. Similar liver transplantation survival with selected cardiac death donors and brain death donors. *Br J Surg* 2010; 97(5):744-53.
105. Gastaca M. Biliary complications after orthotopic liver transplantation: a review of incidence and risk factors. *Transplant Proc* 2012; 44(6):1545-9.
106. Jagannath S, Kalloo AN. Biliary Complications After Liver Transplantation. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2002; 5(2):101-112.



107. Park JB, Kwon CH, Choi GS, et al. Prolonged cold ischemic time is a risk factor for biliary strictures in duct-to-duct biliary reconstruction in living donor liver transplantation. *Transplantation* 2008; 86(11):1536-42.
108. Brunner SM, Junger H, Ruemmele P, et al. Bile duct damage after cold storage of deceased donor livers predicts biliary complications after liver transplantation. *J Hepatol* 2013; 58(6):1133-9.
109. Kojima T, Sawada N. Expression and function of claudins in hepatocytes. *Methods Mol Biol* 2011; 762:233-44.
110. Maly IP, Landmann L. Bile duct ligation in the rat causes upregulation of ZO-2 and decreased colocalization of claudins with ZO-1 and occludin. *Histochem Cell Biol* 2008; 129(3):289-99.
111. Kojima T, Yamamoto T, Murata M, et al. Regulation of the blood-biliary barrier: interaction between gap and tight junctions in hepatocytes. *Med Electron Microsc* 2003; 36(3):157-64.
112. Fickert P, Fuchsbichler A, Wagner M, et al. Regurgitation of bile acids from leaky bile ducts causes sclerosing cholangitis in Mdr2 (Abcb4) knockout mice. *Gastroenterology* 2004; 127(1):261-74.
113. Heidenhain C, Pratschke J, Puhl G, et al. Incidence of and risk factors for ischemic-type biliary lesions following orthotopic liver transplantation. *Transpl Int* 2010; 23(1):14-22.
114. Karimian N, Op den Dries S, Porte RJ. The origin of biliary strictures after liver transplantation: is it the amount of epithelial injury or insufficient regeneration that counts? *J Hepatol* 2013; 58(6):1065-7.

115. Carpino G, Cardinale V, Onori P, et al. Biliary tree stem/progenitor cells in glands of extrahepatic and intrahepatic bile ducts: an anatomical in situ study yielding evidence of maturational lineages. *J Anat* 2012; 220(2):186-99.
116. Dipaola F, Shivakumar P, Pfister J, et al. Identification of intramural epithelial networks linked to peribiliary glands that express progenitor cell markers and proliferate after injury in mice. *Hepatology* 2013; 58(4):1486-96.
117. Irie T, Asahina K, Shimizu-Saito K, et al. Hepatic progenitor cells in the mouse extrahepatic bile duct after a bile duct ligation. *Stem Cells Dev* 2007; 16(6):979-87.
118. Nakanuma Y, Hosono M, Sanzen T, et al. Microstructure and development of the normal and pathologic biliary tract in humans, including blood supply. *Microsc Res Tech* 1997; 38(6):552-70.
119. Sutton ME, van den Dries S, Koster MH, et al. Regeneration of human extrahepatic biliary epithelium: the peribiliary glands as progenitor cell compartment. *Liver Int* 2012; 32(4):554-9.
120. Chen WJ, Ying DJ, Liu ZJ, et al. Analysis of the arterial supply of the extrahepatic bile ducts and its clinical significance. *Clin Anat* 1999; 12(4):245-9.
121. Foley DP, Fernandez LA, Levenson G, et al. Biliary complications after liver transplantation from donation after cardiac death donors: an analysis of risk factors and long-term outcomes from a single center. *Ann Surg* 2011; 253(4):817-25.
122. Fujita S, Fujikawa T, Mizuno S, et al. Is early recurrence of hepatitis C associated with biliary anastomotic stricture after liver transplantation? *Transplantation* 2007; 84(12):1631-5.

123. Stratta RJ, Wood RP, Langanas AN, et al. Diagnosis and treatment of biliary tract complications after orthotopic liver transplantation. *Surgery* 1989; 106(4):675-83; discussion 683-4.
124. Vallera RA, Cotton PB, Clavien PA. Biliary reconstruction for liver transplantation and management of biliary complications: overview and survey of current practices in the United States. *Liver Transpl Surg* 1995; 1(3):143-52.
125. Weiss S, Schmidt SC, Ulrich F, et al. Biliary reconstruction using a side-to-side choledochocholedochostomy with or without T-tube in deceased donor liver transplantation: a prospective randomized trial. *Ann Surg* 2009; 250(5):766-71.
126. op den Dries S, Karimian N, Sutton ME, et al. Ex vivo normothermic machine perfusion and viability testing of discarded human donor livers. *Am J Transplant* 2013; 13(5):1327-35.
127. Baccarani U, Adani GL, Isola M, et al. Steatosis of the graft is a risk factor for posttransplantation biliary complications. *Transplant Proc* 2009; 41(4):1313-5.
128. Heidenhain C, Heise M, Jonas S, et al. Retrograde reperfusion via vena cava lowers the risk of initial nonfunction but increases the risk of ischemic-type biliary lesions in liver transplantation--a randomized clinical trial. *Transpl Int* 2006; 19(9):738-48.
129. Sankary HN, McChesney L, Frye E, et al. A simple modification in operative technique can reduce the incidence of nonanastomotic biliary strictures after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 1995; 21(1):63-9.
130. Abt P, Crawford M, Desai N, et al. Liver transplantation from controlled non-heart-beating donors: an increased incidence of biliary complications. *Transplantation* 2003; 75(10):1659-63.

131. Reich DJ, Mulligan DC, Abt PL, et al. ASTS recommended practice guidelines for controlled donation after cardiac death organ procurement and transplantation. *Am J Transplant* 2009; 9(9):2004-11.
132. Porte RJ, Clavien PA. Preflush with plasminogen activator in non-heart-beating donors: is it worth it? *Transplantation* 2000; 69(9):1769-71.
133. de Rougemont O, Lehmann K, Clavien PA. Preconditioning, organ preservation, and postconditioning to prevent ischemia-reperfusion injury to the liver. *Liver Transpl* 2009; 15(10):1172-82.
134. Halme L, Hockerstedt K, Lautenschlager I. Cytomegalovirus infection and development of biliary complications after liver transplantation. *Transplantation* 2003; 75(11):1853-8.
135. Hoekstra H, Buis CI, Verdonk RC, et al. Is Roux-en-Y choledochojejunostomy an independent risk factor for nonanastomotic biliary strictures after liver transplantation? *Liver Transpl* 2009; 15(8):924-30.
136. Geuken E, Visser D, Kuipers F, et al. Rapid increase of bile salt secretion is associated with bile duct injury after human liver transplantation. *J Hepatol* 2004; 41(6):1017-25.
137. Cheng L, Zhao L, Li D, et al. Role of cholangiocyte bile Acid transporters in large bile duct injury after rat liver transplantation. *Transplantation* 2010; 90(2):127-34.
138. Hertl M, Harvey PR, Swanson PE, et al. Evidence of preservation injury to bile ducts by bile salts in the pig and its prevention by infusions of hydrophilic bile salts. *Hepatology* 1995; 21(4):1130-7.

139. Hoekstra H, Porte RJ, Tian Y, et al. Bile salt toxicity aggravates cold ischemic injury of bile ducts after liver transplantation in Mdr2+/- mice. *Hepatology* 2006; 43(5):1022-31.
140. Knoop M, Schnoy N, Keck H, et al. Morphological changes of human common bile ducts after extended cold preservation. *Transplantation* 1993; 56(6):1572-3.
141. Beuers U, Hohenester S, de Buy Wenniger LJ, et al. The biliary HCO<sub>3</sub>(-)-umbrella: a unifying hypothesis on pathogenetic and therapeutic aspects of fibrosing cholangiopathies. *Hepatology* 2010; 52(4):1489-96.
142. Kadmon M, Bleyl J, Kuppers B, et al. Biliary complications after prolonged University of Wisconsin preservation of liver allografts. *Transplant Proc* 1993; 25(1 Pt 2):1651-2.
143. Li S, Stratta RJ, Langnas AN, et al. Diffuse biliary tract injury after orthotopic liver transplantation. *Am J Surg* 1992; 164(5):536-40.
144. Hintze RE, Adler A, Veltzke W, et al. Endoscopic management of biliary complications after orthotopic liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 1997; 44(13):258-62.
145. Batts KP. Ischemic cholangitis. *Mayo Clin Proc* 1998; 73(4):380-5.
146. Pirenne J, Van Gelder F, Coosemans W, et al. Type of donor aortic preservation solution and not cold ischemia time is a major determinant of biliary strictures after liver transplantation. *Liver Transpl* 2001; 7(6):540-5.
147. Briceno J, Marchal T, Padillo J, et al. Influence of marginal donors on liver preservation injury. *Transplantation* 2002; 74(4):522-6.

